

UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

ACTION DE QUELQUES AGENTS CHIMIOOTHERAPIQUES ET ANTIBIOTIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER

THÈSE

pour l'obtention du grade

DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

Présentée par **Simonne GERARD**

Pharmacien de la Faculté de Paris,
Lauréat de la Faculté,
Directeur adjoint au Laboratoire central du Centre Psychiatrique Sainte-Anne,
Diplômée d'études spéciales de Sérologie, Bactériologie, Hématologie

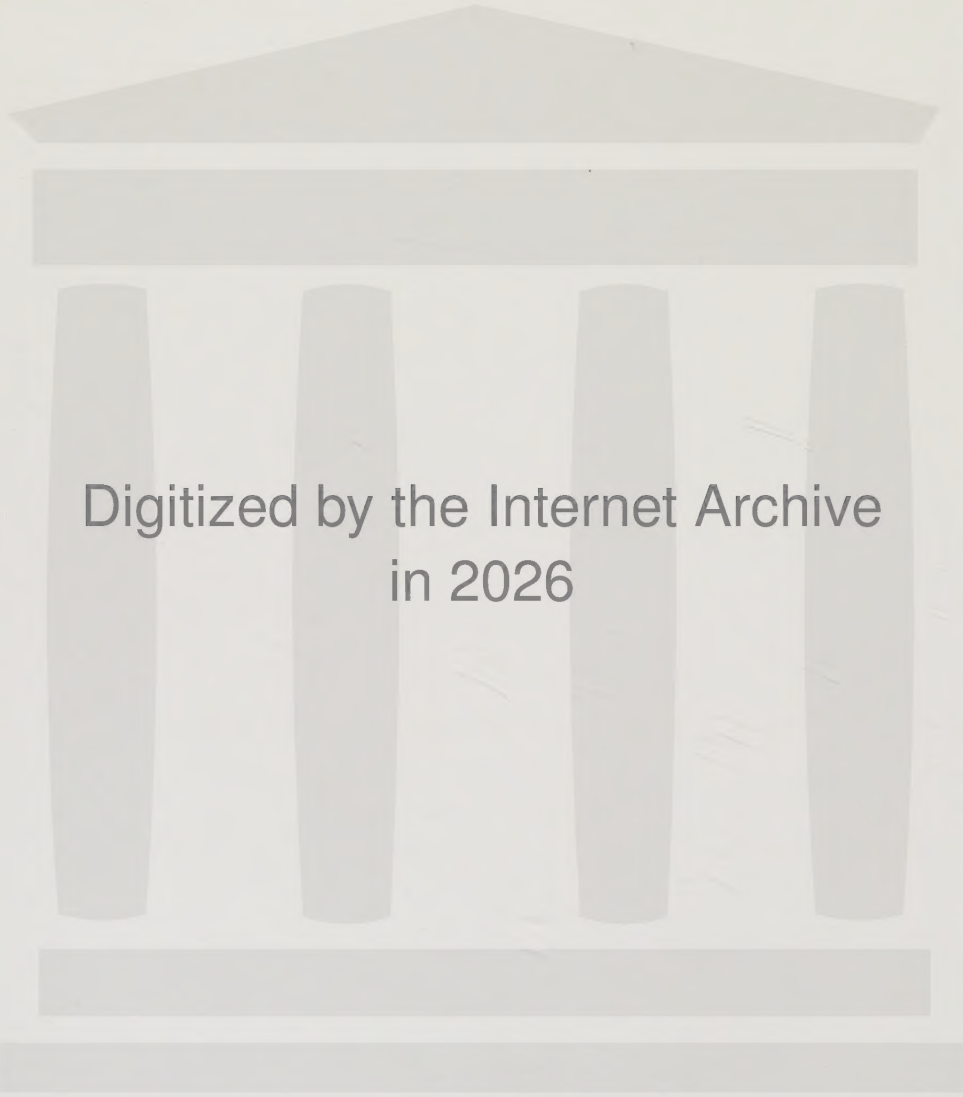
JURY :

Messieurs les Professeurs LAMBIN, Président
CAVIER, Professeur
GERMAN, Professeur

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS - VI*

1959



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554021_0026

UNIVERSITÉ DE PARIS - FACULTÉ DE PHARMACIE

ACTION DE QUELQUES AGENTS CHIMIOTHERAPIQUES ET ANTIBIOTIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER

THÈSE

pour l'obtention du grade

DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

Présentée par **Simonne GERARD**

Pharmacien de la Faculté de Paris,
Lauréat de la Faculté,
Directeur adjoint au Laboratoire central du Centre Psychiatrique Sainte-Anne,
Diplômée d'études spéciales de Sérologie, Bactériologie, Hématologie

JURY :

Messieurs les Professeurs LAMBIN, Président
CAVIER, Professeur
GERMAN, Professeur

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne
PARIS-VI^e

1959

76

UNIVERSITEIT DE LEIDEN FACULTEIT DE FARMACIE

ACTION DE QUELQUES AGENTS CHIMIOOTHERAPIQUES
ANTIBIOTIQUES SUR LE TROUSSEAU DE REITER

THÈSE



DEBATE UNIVERSITEIT DE LEIDEN

PAR M. J. VAN DER WOUDE
MAGISTRUS

1961

Leiden, le 15 Mars 1961
M. J. VAN DER WOUDE

DEBATE UNIVERSITEIT DE LEIDEN

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

M. René FABRE, Doyen, Membre de l'Institut
MM. JANOT, Assesseur, G. CUVIER, Secrétaire Général
M. L. JEANDEL, Secrétaire
M. A. QUILLIOT, Secrétaire
Doyen Honoraire, M. RADAIS

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DELEPINE et LEBEAU, Membres de l'Institut , LAUNOY , FLEURY,
MASCRE, PICON.

PROFESSEURS

MM. FABRE, Membre de l'Institut	Toxicologie (T.)
JANOT	Pharmacie galénique (T.)
VALETTE	Pharmacodynamie (T.)
BEDEL	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.)
PARIS	Histoire naturelle des médica- ments simples d'origine végétale (T.)
GUILLOT	Physique (T.)
GAUTIER	Chimie organique (T.)
Melle LAMBIN	Microbiologie (T.)
MM. RAUL	Zoologie appliquée (T.)
COURTOIS	Chimie biologique (T.)
DOMANGE	Chimie minérale (T.)
CRETE	Botanique (T.)
TRUHAUT	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.P.)
MORETTE	Hydrologie (T.)
CAVIER	Parasitologie (T.P.)
QUEVAUVILLER	Hygiène (T.)
MOREAU	Pharmacie chimique (T.)
GUY	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.)
GERMAN	Technique bactériologique (T.P.)
PIETTE	Biologie sanguine (T.P.)
MALANGEAU	Chimie analytique (T.)

MAITRES DE CONFERENCES

MM. DEYSSON	Cryptogamie
FLAHAUT	Minéralogie
RENAULT Jean	Chimie organique
DILLEMANN	Biologie végétale
GIRARD	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES (suite)

MM. LARUELLE	Physique
LE MOAN	Toxicologie
ROSSIGNOL	Pharmacodynamie
LE HIR	Pharmacie galénique
RENAULT Henri	Pharmacie chimique
DESVIGNES	Microbiologie
N... ..	Biochimie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BORY	Sérologie
CORRIEZ	Physique
N... ..	Microbiologie
GARDENT	Chimie analytique (1ère année)
GESTEAU	Physique biologique
HARISPE	Chimie générale et pharmaceutique
HENRY	Chimie analytique (2e et 3e années)
LECLERC	Chimie biologique
Melle LONGUEVALLE	Service des examens de Chimie
PELLERIN	Chimie analytique (2e et 3e années)
PERCHERON	Chimie (4e année)
POTTIER	Pharmacie galénique industrielle
Melle ROLLEN	Biologie végétale
SAVEL	Parasitologie

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

MM. GOUTAREL	Chef de Travaux de Pharmaco- technie galénique
LUSINCHI	Chef de Trav. de Pharmaco- technie chimique
Melle MORIN	Chef de Trav. de Pharmaco- dynamie

BIBLIOTHEQUE

Conservateur, chargé de la Direction : M. GARNIER
 Conservateur : Melle LAVAUD
 Bibliothécaires : Mmes DESGRIPPES et KREHMER

A mes Parents,

A mon Mari,

A mes Enfants,

A mes Amis,

A mes Maîtres de la Faculté de Pharmacie de Paris.

A notre Maître et Président de Thèse,

Mademoiselle le Professeur S. LAMBIN,

Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Paris,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de
cette thèse, nous exprimons
toute notre admiration et
toute notre gratitude.

A Monsieur le Professeur CAVIER,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,

Qui a bien voulu accepter de
juger notre thèse, en té-
moignage de notre bien vive
gratltitude.

A Monsieur le Professeur GERMAN,

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris,

Qui nous a fait le très grand
honneur de faire partie de
notre jury.

A Monsieur Maurice DELAVILLE,

Directeur du laboratoire de Biochimie neuro-pathologique
de l'Ecole des Hautes Etudes,
Directeur du laboratoire Central de l'Hôpital Sainte Anne,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

En témoignage de notre
respectueuse reconnais-
sance pour sa grande
bienveillance et son
affectueuse sollicitude.

A Monsieur le Docteur S. MUTERMILCH,

Avec notre profonde reconnaissance
pour les précieux conseils qu'il
a bien voulu nous donner, en té-
moignage de notre respectueux
attachement.

ACTION DE QUELQUES AGENTS CHIMIOOTHERAPIQUES
ET ANTIBIOTIQUES
SUR LE TREPONEME DE REITER

P L A N



	Pages
INTRODUCTION	3
LE TREPONEME DE REITER	
HISTORIQUE	7
MORPHOLOGIE	9
CYCLE EVOLUTIF	10
1. Phase de scissiparité transversale	
2. Enkystement	
CULTURE	13
1. Tentatives de culture de Treponema pallidum	13
2. Milieux de culture pour le tréponème de Reiter	14
a) les différents milieux de base	
b) enrichissement du milieu	
3. Action de divers facteurs	
a) température	15
b) richesse de l'inoculum	
c) facteurs de croissance	
4. Culture sur embryon de poulet	16
CARACTERES BIOCHIMIQUES	18
IMMUNOLOGIE	19
1. Constitution antigénique	
2. Les différents antigènes préparés à partir du tréponème de Reiter.	
Résultat : supériorité des techniques employant les antigènes tréponémiques.	

	Pages
RECHERCHES PERSONNELLES	
ETUDE DE L'ACTION DE DIVERS ANTIBIOTIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER	25
I. ETUDE DES EXPERIENCES ANTERIEURES	26
II. RECHERCHES PERSONNELLES	28
III. L'ACTION DE LA PENICILLINE ET DES AUTRES ANTIBIOTIQUES SUR TREPONEMA PALLIDUM - COMPARAISON AVEC L'ANTIBIOGRAMME DU TRE- PONEME DE REITER	34
1. Méthodes d'expérimentation	
2. Résultats et comparaison	
IV. CONCLUSIONS	46
ACTION DE DIVERS AGENTS CHIMIOOTHERAPIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER	48
ESSAIS DE CREATION DE RACES ANTIBIOTICO-RESISTANTES DU TREPONEME DE REITER	54
I. Que connaît-on de la pénicillino- résistance de Treponema pallidum?	
II. Peut-on créer des races de tréponèmes de Reiter antibiotico-résistantes ?	
III. Conclusion.	
PROBLEME DE L'IDENTITE DU TREPONEME DE REITER ET DU TREPONEME PALE	60
MORPHOLOGIE DU TREPONEME DE REITER SOUMIS A L'AC- TION DE LA PENICILLINE	64
MECANISME DE L'ACTION BACTERICIDE DE LA PENICILLINE IN VIVO	67
CONCLUSIONS	73
BIBLIOGRAPHIE	75

INTRODUCTION

-:-

Pendant ces dernières années, la sérologie classique de la syphilis s'est non seulement perfectionnée par l'emploi de la cardiolipine dans les antigènes, mais encore elle s'est enrichie de deux réactions remarquables, parce que essentiellement spécifiques, la réaction de Nelson, ou Test d'immobilisation des tréponèmes, découverte par Nelson en 1949, et la réaction de Gaethgens, réaction de déviation du complément en présence d'antigènes tréponémiques, proposée par Gaethgens dès 1929, mais reprise seulement en 1945 par d'Alessandro, Oddo, et Dardanoni ainsi que par Puccinelli.

Depuis, de nombreux laboratoires ont utilisé cet antigène tréponémique: en Allemagne, Roemer et Schlipkoter, en France, Pautrizel, Szersnovicz et Gixenez, puis Benazet, Brottes, Thivolet et Sohier.

Enfin en 1955, S. Mutermilch et M. Delaville, au Laboratoire Central du Centre Psychiatrique Sainte-Anne, ont pratiqué des réactions de déviation du complément sur 51 sérums, et des réactions d'agglutination sur 70 liquides céphalo-rachidiens en employant comme antigène une suspension de tréponèmes de Reiter.

A la suite de cette expérimentation, confirmant, une fois de plus, que la structure antigénique de *Treponema pallidum* est très voisine de celle de *Treponema Reiteri*, nous avons pensé que ces deux tréponèmes pouvaient avoir des propriétés communes, telles par exemple, leur sensibilité aux antibiotiques, leur sensibilité à divers agents minéraux, l'impossibilité de former des races antibiotico-résistantes.

C'est donc à partir de cette idée que nous nous sommes attachés à l'étude du tréponème de Reiter.

La bibliographie à son sujet est assez importante, les travaux ayant été faits surtout par les auteurs américains. En réunissant les connaissances ainsi acquises, nous avons pu diviser l'étude du microorganisme en plusieurs chapitres:

Historique.

Morphologie. Cycle évolutif.

Culture.

Caractères biochimiques.

Immunologie.

Nos recherches personnelles comprennent, dans une première partie, trois chapitres, mettant toujours en parallèle le tréponème de Reiter et le tréponème de Schaudinn.

1°- Sensibilité aux antibiotiques.

2°- Sensibilité aux agents chimiothérapiques actifs dans la syphilis.

3°- Antibiotico-résistance.

Enfin, en conclusion de ces trois questions, nous nous sommes penchés sur le problème de l'identité du tréponème de Reiter et du tréponème de Schaudinn.

Nous avons ensuite abordé la question du mécanisme de l'action bactéricide des antibiotiques sur le tréponème de Reiter. Nous n'avons pas résolu évidemment cette question complexe et délicate, mais nous pensons y avoir apporté quelques éléments nouveaux.

Nous avons étudié successivement :

- les modifications de morphologie du tréponème de Reiter soumis à l'action de la pénicilline in vitro, parallèlement à celles qui se produisent spontanément lors du vieillissement du tréponème.
- puis, nous inspirant des travaux de Levaditi et Nicolau sur "l'activation" de divers sels d'arsenic, d'antimoine, de bismuth et de

vanadium par des extraits cellulaires, nous avons étudié le rôle stimulateur éventuel de divers organes sur la pénicilline, vis-à-vis du tréponème de Reiter.

LE TREPONEME DE REITER

-:-

Historique

Morphologie. Cycle évolutif.

Culture

Caractères biochimiques

Immunologie

HISTORIQUE

-:-

On ne trouve, dans la bibliographie, aucune publication précise concernant l'observation et l'isolement de l'espèce *Treponema Reiteri*, qui a pris récemment une importance considérable dans la sérologie de la syphilis.

Nous devons les précisions que nous allons donner ici, d'une part au Professeur Dr. Med. Hans Reiter, lui-même, d'autre part, à une étude de Ruge (1) "sur le rôle du tréponème de Reiter dans la sérologie moderne de la syphilis", qui met l'accent sur les travaux effectués par Wassermann et Ficker (2) en 1922.

Dans l'un et l'autre cas, et si les manipulations ont été différentes, les auteurs ont isolé, à partir de matériel syphilitique humain, une souche de tréponème cultivable.

- Le Professeur Dr. Med. Hans Reiter a bien voulu nous préciser que c'est en 1925 qu'il isola *Treponema Reiteri*, "dans le laboratoire de Wassermann, à partir d'une infection primaire d'un homme. Le matériel fut injecté dans une veine de lapin, et quelque temps après, il y avait des nodules dans le testicule. Le nodule fut extirpé et inoculé dans un milieu de culture", préparé par l'auteur pour la culture de *Spirocheta dentium* et *Spirocheta pallida*, composé de sérum de lapin additionné de fragments de foie, de rein ou de cerveau de cobaye ou de lapin (3).

D'après Gaethgens. (4 et 5), Reiter aurait ensuite confié cette souche à l'usine de produits biologiques de Dresde.

- Alors que Reiter avait travaillé à partir d'un chancre syphilitique, Wassermann et Ficker opérèrent à partir du sérum de mala-

des présentant un chancre primaire.

A partir de 80 à 90 sérums, ils isolèrent 7 souches virulentes de *Treponema pallidum*. Une souche B36 fut gardée et cultivée dans un milieu liquide anaérobie consistant en du sérum de cheval dilué auquel on ajoute une partie de bouillon de foie.

Après une série de repiquages, les auteurs signalèrent que la souche se montrait virulente pour les lapins. En 1922, Reiter infecta des lapins avec des souches de culture parmi lesquelles la souche B36. A partir de ce moment, cette souche fut connue sous le nom de tréponème de Reiter.

Mais en même temps, la souche avait perdu complètement sa virulence, et il n'était plus possible de la transmettre avec succès au lapin. Durant la seconde guerre mondiale, la souche Reiter fut perdue en Allemagne, jusqu'en 1951 (Fühner 1952).

MORPHOLOGIE - CYCLE EVOLUTIF

-:-

Le tréponème de Reiter a fait l'objet d'observations très complètes de la part d'Abraham Gelperin, publiées en 1949 dans l'*American Journal of Syphilis, Gonorrhea and Venereal Diseases* (6), et dans lesquelles l'auteur met le plus possible en parallèle *Treponema Reiteri* et *Treponema pallidum*.

Nous nous sommes donc reportés à cette étude, dont voici les principaux points :

- Observation directe
- Observation au microscope électronique
- Cycle évolutif
- 1°- Dans les conditions favorables de culture la multiplication a lieu par scissiparité transversale
- 2°- Dans les conditions défavorables, elle se produit par enkystement.

MORPHOLOGIE

Le tréponème de Reiter, observé dans le milieu de Brewer au thioglycollate, additionné de sérum chauffé, est un organisme de 20 à 35 μ de long, sur 0,5 à 0,75 μ de large. Il est donc 1,5 à 3 fois plus épais que le tréponème pâle, et 2 à 4 fois plus long.

Ses spires sont plus grossières, très larges, de 3 μ

Ses extrémités sont pointues.

Il est très réfringent.

Ses mouvements sont moins rapides que ceux du Tréponème de Schaudinn.

Le microscope électronique (7) a montré qu'il possède 2 à 7 flagelles lophotriches prenant naissance au voisinage de l'extrémité; le granule probasal de ces flagelles n'a pas été observé. D'après Babudieri (8), le corps du tréponème est un cylindre épais de protoplasme enveloppé dans une fine membrane anhiste qui se prolonge au delà de l'extrémité pour simuler un flagelle terminal. Le long du corps, court une membrane ondulante étroite et mince, nettement fibrillaire qui se dilate vers l'extrémité arrondie, formant un flagelle à insertion subterminale. Cette membrane est très fragile et se rompt facilement, libérant les fibrilles qui la constituent et qui peuvent ainsi simuler des cils lophotriches; le flagelle subterminal peut ainsi se transformer en une touffe de cils.

Toutes ces formes décrites sont celles que l'on observe dans les cultures repiquées régulièrement, tous les 5 à 7 jours, dans le milieu contenant 0,5 à 0,7 p.100 d'agar.

CYCLE EVOLUTIF

Le cycle évolutif, étudié par Gelperin, (6) se poursuit différemment, suivant que les conditions sont favorables ou défavorables. Dans le premier cas la multiplication a lieu par scissiparité transversale, et dans le deuxième, on observe un enkystement.

I°- Phase de scissiparité transversale

Dans les cultures fraîchementensemencées, et jusqu'au 5ème à 7ème jour de culture, on a observé une phase de scissiparité transversale, à peu près identique à celle de *Treponema pallidum*. Chez ce dernier, pendant que le plus long segment du corps tréponémique demeure immobile, le plus court tourne rapidement et se sépare au bout de 20 à 30 minutes.

Le même mouvement a été observé chez le tréponème de Reiter, bien que le détachement du segment rotatif n'ait pas été vu, même au bout de 24 heures d'observation.

Il est remarquable que les formes les plus courtes du tréponème prédominent durant la période de croissance logarithmique, et que les tréponèmes plus longs commencent à être les plus nombreux quand cette période cesse. Le temps de division d'environ 8 heures pour *Treponema Reiteri* est beaucoup moins long que celui de 30 à 32 heures indiqué pour *Treponema pallidum*.

2°- Enkystement

Lorsque l'on étudie une culture de 2 à 3 semaines, on observe les modifications morphologiques suivantes : apparition de sphères transparentes contenant des corpuscules petits, ronds, translucides, à une des extrémités du tréponème. Après 4 à 6 semaines de culture, certaines de ces sphères sont détachées du tréponème et deviennent libres.

Après plusieurs mois de culture, on constate la disparition presque complète des tréponèmes, et leur remplacement par des corps sphériques. Les phases du développement représentent probablement un enkystement de l'organisme qui se produit quand la multiplication devient impossible.

Il est intéressant de noter que ces formes variées, non spirochètiennes, peuvent être obtenues rapidement en 3 à 5 jours, dans un milieu privé d'agar, sans agitation, ou en 24 heures, dans un milieu contenant du sérum frais ou du plasma au lieu de sérum chauffé.

Nous avons remarqué, pour notre part, l'apparition rapide de ces formes, dans les cultures soumises à l'action de la pénicilline. Ceci sera exposé plus précisément dans le 5ème chapitre de notre étude.

On a observé également que l'apparition de ces diverses formes est associée à une chute du pH du milieu, passant de la valeur normale 7,2 à 6,0. Elle peut être retardée en accroissant le pouvoir tampon du milieu.

Il semble que ces kystes, transférés dans un grand volume de milieu frais, peuvent donner naissance à des formes spiralées. Au bout de 48 heures apparaissent, dans le milieu, de nombreux tréponèmes courts très mobiles, et qui sont presque aussi minces que les tréponèmes de Schaudinn.

CULTURE

- 3 -

L'isolement du tréponème de Reiter date des travaux effectués dans le but d'obtenir des cultures de *Treponema pallidum* et c'est par conséquent sur les milieux préparés pour ce dernier que le tréponème de Reiter a été cultivé primitivement. Actuellement, les milieux de culture utilisés ont la même composition de base, mais sont diversement enrichis, et contiennent une substance maintenant les conditions d'anaérobiose, le thioglycollate.

Dans ce chapitre, nous verrons successivement :

1°- les milieux sur lesquels furent faites les tentatives de culture de *Treponema pallidum*.

2°- les milieux de culture pour le tréponème de Reiter, qui comportent la préparation d'un milieu de base, puis son enrichissement.

3°- l'incidence de divers facteurs, tels que la température, la richesse de l'inoculum, les facteurs de croissance, sur le développement des cultures.

4°- enfin, la culture du tréponème de Reiter, sur embryon de poulet.

1°- Tentatives de culture de *Treponema pallidum*.

Les premiers travaux qui furent faits en vue de la culture de *Treponema pallidum* utilisaient des milieux comprenant deux phases (9) sérum ou liquide d'ascite, additionné de fragments d'organes frais prélevés stérilement sur l'animal normal.

Le milieu de Noguchi contenait du liquide d'ascite et des tissus de lapin.

Le milieu de Reiter était composé de sérum de lapin, additionné de fragments de foie, de rein ou de cerveau de cobaye ou de lapin.

Akatsu trouva que le glucose ou le glycogène ajouté au milieu inhibait la croissance de certaines souches.

Zinsser, Hopkins et Gilbert employaient des mélanges de bouillon-sérum-gélatine, avec des tissus de lapin ou du jus de viande. Ils notèrent également l'effet de symbiose réalisé par la présence dans le milieu, de certains cocci, tels que des Staphylocoques tués.

2°- Milieux de culture pour le tréponème de Reiter.

En ce qui concerne les souches de culture, telles que les souches Nichols, Reiter, Kazan, il se trouve que leurs besoins cultureux sont beaucoup plus simples que ceux des souches qui viennent d'être isolées de l'organisme.

Rose et Morton (10) ont particulièrement étudié les différents milieux de culture actuellement utilisés pour les trois souches: Nichols, Reiter, et Kazan. Le tréponème de Reiter, légèrement plus épais, pousse cependant plus vite que les autres. Le tréponème de Kazan est le plus mince et pousse plus lentement. En général, aucune différence dans les besoins cultureux de ces souches n'a été notée.

a) Voici les différents milieux de base :

Suivant Brown, au produit de digestion pancréatique du coeur de boeuf frais, on ajoute du thioglycollate.

Nous-mêmes, avons toujours utilisé le "Bacto-Brewer Thioglycollate Medium" préparé par les Laboratoires DIFCO (Détroit Michigan), dont la formule par litre est la suivante :

" Beef, Infusion from	500 g:
Sodium chloride	5 g:
Dipotassium phosphate	10 g.
Proteose-Peptone, Difco ..	10 g:
Bacto-Dextrose	5 g
Sodium Thioglycollate Difco	0,5 g
Bacto-Agar	0,5 g
Bacto-Méthylène Blue	0,002 g ^m

Le pH final est de 7,2.

Nous citerons encore le "Bacto-Linden Thioglycollate Medium", contenant 2 % de proteose-peptone et 0,2 % d'extrait de levure, à la place de l'infusion de boeuf et de la proteose-peptone du milieu précédent.

Enfin le "Bacto-Fluid Thioglycollate Medium" à 0,5 % d'extrait de levure, 1,5 % de casitone, glucose, chlorure de sodium, l-cystine (0,075 %), acide thioglycollique (0,03 %) agar et reazurine.

Ce dernier est identique au milieu employé par Gelperin.

Tous ces milieux de base sont utilisés immédiatement après passage à l'autoclave, et mis au frais, sans agitation, pour réduire la quantité d'oxygène dissout.

b) Enrichissement du milieu.

Il est ensuite nécessaire d'ajouter au milieu et dans la proportion de 10 % une source de protéine. On a utilisé soit le liquide d'ascite, soit le sérum de lapin, soit le plasma chauffé.

Nous avons toujours utilisé, pour notre part, du sérum de cheval, fourni par le laboratoire de la Biothérapie.

3°- Action de divers facteurs.

a) Température

Rose et Morton ont étudié l'action de la température sur le

développement des cultures du tréponème de Reiter. Il y a peu de différence entre 30 et 37 degrés. La culture est plus lente et moins typique jusqu'à 24 degrés. Il n'y a pas de développement à 24 degrés, mais le repiquage est positif, même après 4 semaines à cette température.

b) Richesse de l'inoculum

Gelperin a étudié l'action de la concentration initiale des tréponèmes dans le milieu, donc de l'inoculum, sur l'allure de la multiplication. Trois séries de tubes sont ensemencés de telle sorte que les concentrations initiales dans le milieu au temps 0, soient : 4×10^5 , 4×10^6 , 4×10^7 germes par centimètre cube. Il observe que, si la période de croissance logarithmique est allongée avec les concentrations initiales les plus basses la même concentration finale est obtenue, quelle que soit la richesse de l'inoculum.

c) Facteurs de croissance

L'acide pantothénique, la glutamine, et la l-phénylalanine sont des facteurs de croissance pour ce tréponème.

Steinmann, Eagle et Oyama ont cultivé le tréponème de Reiter sur un milieu chimiquement défini comprenant 13 acides aminés : arginine, acide aspartique, cystine, acide glutamique, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine; 2 vitamines, pyridine et pyrimidine ; des glucides, des ions minéraux et la séro-albumine cristallisée. L'adénine est un facteur de croissance, de même que l'acide oléique.

4°- Culture sur embryon de poulet

Enfin Beardmore et Dodd (11) ont étudié le développement de la souche Reiter, dans l'embryon de poulet. L'anaérobiose, absolument nécessaire, est réalisée par paraffinage de la coquille aussitôt suivi de la mort de l'embryon. Newcomber et Haanes (12) ont cultivé de même la souche Nichols.

Les tentatives de culture de *Treponema pallidum* virulent dans l'oeuf de poule n'ont pu prouver que la reproduction se produisait dans l'embryon, mais ont indiqué plutôt que les tréponèmes survivaient pendant cette période.

While et Snow (1941) et Wile et Johnson (1944) ont montré qu'approximativement 25 % des embryons inoculés étaient infectieux pour le lapin après 8 jours d'incubation. Mais l'impossibilité de mettre les tréponèmes en évidence par des examens microscopiques, amena les auteurs à penser que ces organismes survivaient dans une phase ultra-microscopique.

CARACTERES BIOCHIMIQUES

-:-

Barban (13) a établi que la souche Reiter est capable de désaminer 5 acides aminés : l-glutamate, l-histidine, l-cystéine, l-arginine et thréonine. Le CO_2 n'est libéré qu'à partir du glutamate et de l'histidine.

Les produits terminaux sont : NH_3 , CO_2 et l'acide succinique.

D'après Moureau et Aladame, c'est un ferment acétique produisant NH_3 , SH_2 , et indole.

IMMUNOLOGIE

-:-

La souche Reiter a du, jusqu'à maintenant son importance à son emploi comme antigène pour les réactions de dépistage de la syphilis.

En effet, les antigènes classiquement employés, qu'ils soient lipidiques et préparés empiriquement, ou cardiolipidiques, et composés de cardiolipine, cholestérol et lécithine, détectent dans le sérum une réagine antilipidique, et non anti-tréponémique ou même tréponémicide comme l'immobilisme de Nelson (14).

Les travaux de D'Alessandro, Oddo et Dardanoni ont montré que l'antigène tréponémique Reiter met en évidence dans le sérum des syphilitiques des anticorps réagissant avec certains éléments constitutifs du tréponème et distincts de ceux révélés par les réactions classiques.

Cette propriété est due à la constitution antigénique du tréponème de Reiter, très proche de celle de *Treponema pallidum*, et a été étudiée par D'Alessandro et Puccinelli.

1°- Constitution antigénique.

D'Alessandro et Puccinelli ont isolé dans le tréponème de Reiter 3 fractions antigéniques : TL protidique, TS polysaccharidique, L lipidique. "A ces antigènes, correspondent respectivement dans le sérum des syphilitiques, 3 anticorps : TL, TS, L; ce dernier comprend même deux variétés distinctes, l'une fixant le complément, l'autre provoquant la floculation" - Demanche -

Des 3 anticorps qu'il distingue dans le sérum des syphiliti-

ques, Puccinelli considère d'ailleurs que "le plus spécifique, celui qui fournit par excellence la preuve immuno-chimique de la présence du tréponème dans l'organisme, ce n'est pas l'anticorps anti-lipidique L, c'est l'anticorps antiprotidique TL".

C'est pourquoi, Dardanoni et Censuales (15) ont comparé, sur le plan sérologique, deux extraits protéiques antigéniques de tréponèmes, l'un de souche Reiter, l'autre de souche Nichols pathogène.

Les extraits protéiques sont préparés par précipitation au sulfate d'ammonium après cryolyse des tréponèmes. Des essais d'adsorption croisée de sérum humain spécifique et de sérum de lapin anti-Reiter ont montré que l'antigène protéique Nichols était capable d'adsorber les anticorps qui lui correspondent en propre et également ceux réagissant avec l'antigène protéique Reiter. Au contraire, ce dernier n'adsorbe que les anticorps homologues.

Ils en concluent que *Treponema pallidum* virulent, et *Treponema Reiteri* possèdent un antigène commun, et que le premier est doté, en plus, d'un composant antigénique spécifique.

D'autre part, l'adsorption de sérums, avec des suspensions de tréponèmes, au lieu d'extraits protéiques, n'élimine que les anticorps homologues. Les auteurs expliquent ces variations entre les pouvoirs adsorbants des suspensions de tréponèmes ou de leurs extraits protéiques, en supposant une localisation différente de l'antigène sur le corps tréponémique, à savoir, localisation superficielle de l'antigène spécifique d'espèce, et profonde de l'antigène de groupe.

2°- Les différents antigènes préparés à partir du tréponème de Reiter.

Ce sont, soit de simples suspensions de tréponèmes de Reiter, soit des tréponèmes désintégrés, soit des extraits de tréponèmes.

- Klopstock en 1926 fut le premier à obtenir des réactions

sérologiques positives chez des syphilitiques en utilisant une suspension alcoolique dense de la souche Reiter.

- Puis Gaethgens, de 1929 à 1937, fit des expériences avec cette souche, et produisit un antigène appelé Palligen, émulsion concentrée de tréponèmes de Reiter, dont il montra la grande sensibilité. Cet antigène encore appelé "Pallida antigen", était constitué par une suspension de tréponèmes en soluté physiologique additionné de phénol.

- Actuellement, l'Institut Sérothérapique S. Beifanti, de Milan, prépare l'antigène dit "Pallignost", obtenu à partir d'une suspension de tréponèmes de Reiter, mais ne contenant pas exclusivement des corps microbiens.

- Un nouvel antigène a été préparé par Pautrizel, Bonnardot, Szersnovicz (16) (Bordeaux), constitué par des tréponèmes de culture désintégrés par les ultra-sons (T-U-S). Ce "réactif antigénique" se conserve pendant longtemps à 6° et en solution phéniquée.

- D'autre part, Gastinel, Vaisnan, Hamelin et Dunoyer (17) ont expérimenté un produit italien "Antigene treponenico proteico solubile" A.T.P.S.

- Un autre antigène a été préparé par De Bruijn (18), à partir d'une suspension de la souche Reiter; il utilise un extrait protidique comme antigène dans la réaction de fixation du complément.

- Enfin, D'Alessandro et del Carpio (19), ont préparé, à partir de cultures de tréponèmes de Reiter, un antigène lipo-polyosidique complet, c'est-à-dire réagissant in vitro avec des sérums syphilitiques (réaction d'hémolyse) et capable in vivo de déclencher la formation d'un anticorps spécifique correspondant.

Résultat : Supériorité des techniques employant les antigènes tréponémiques.

Nombreux sont les laboratoires qui ont systématiquement ex-

périmenté ces antigènes.

- Nous citerons les travaux de Sohler, Benazet, Brottes, Thivolet (20) qui ont utilisé l'antigène dit "Pallignost" pour la réaction de fixation du complément, type Kolmer. Leurs expériences ont porté sur 869 sérums et ont montré la supériorité de cette technique sur les réactions employant les antigènes cardiolipidiques.

- S. Mutermilch et M. Delaville (21) ont employé, d'une part l'antigène Pallignost pour pratiquer la réaction de Gaethgens sur le sérum et d'autre part, une suspension de tréponèmes provenant de "Behrings-Werke" à Marburg (Allemagne), pour éprouver les liquides céphalo-rachidiens au moyen de la réaction d'agglutination des tréponèmes de Reiter selon la technique de Roemer et Schlippkoter.

A la suite de leur expérimentation, ils concluent : "Il nous semble que cette réaction soit susceptible d'être substituée au test de Nelson, cependant lorsqu'elle se montre négative, il convient de recourir au test d'immobilisation des tréponèmes selon Nelson".

- En ce qui concerne l'antigène T.U.S. préparé par l'école de Bordeaux, il décèle dans le sang et les humeurs des anticorps anti-T.U.S., différents de la réagine syphilitique. Ils diffèrent également de ceux détectés par le test de Nelson, ou par de simples suspensions de tréponèmes de culture type Pallignost. Pour le diagnostic de l'affection syphilitique, les anti-corps anti-T.U.S. présentent l'avantage d'apparaître dans le sang encore plus précocement que la réagine.

- "L'antigène treponemico proteico soluble" A.T.P.S., a été trouvé par Gastinel, Waisman, Hamelin et Dunoyer, plus sensible que le "pallida antigen" et que les antigènes habituels; il donne cependant une réaction moins sensible que l'épreuve d'immobilisation des tréponèmes.

Les auteurs ont pu, d'autre part, avec l'A.T.P.S., employé par voie intra-dermique, déceler des états de sensibilisation chez

des lapins préparés avec le tréponème de Reiter. Cet antigène provoque aussi des réactions fortement positives chez des lapins syphilisés depuis 55 à 880 jours, mais il est sans effet sur des malades spécifiques, donnant une réponse très accusée au luo-test.

- L'extrait protéique utilisé comme antigène par de Bruijn, donne des réactions plus sensibles mais moins spécifiques que le test de Nelson.

- Enfin D'Alessandro et del Carpio signalent que l'antigène lipo-polyosidique complet donne des résultats d'une sensibilité et d'une spécificité nettement supérieures à ceux de la sérologie lipidique classique.

Pour conclure, les auteurs pensent que la sérologie moderne de la syphilis doit être fondée de plus en plus sur la détection des trois anti-corps différents connus : antiprotéinique, anti-lipidique, et antipolyosidique.

RECHERCHES PERSONNELLES

- 3 -

- I - Etude de l'action de divers antibiotiques sur le tréponème de Reiter.
- II - Action de divers agents chimiothérapiques sur le tréponème de Reiter.
- III - Essais de création de races antibiotico-résistantes du tréponème de Reiter.
- IV - Problème de l'identité du tréponème de Reiter et du tréponème de Schaudinn.
- V - Morphologie du tréponème de Reiter soumis à l'action de la pénicilline.
- VI - Mécanisme de l'action bactéricide de la pénicilline in vivo.

I. ETUDE DE L'ACTION DE DIVERS ANTIBIOTIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER

En même temps que les techniques modernes ont enrichi les méthodes sérologiques de diagnostic de la syphilis, l'avènement de la pénicilline a révolutionné la thérapeutique antisypilitique.

Mais la pénicilline, médicament tréponémicide inégalable, n'est pas le seul antibiotique actif dans la syphilis, et l'étude de l'activité des antibiotiques autres que la pénicilline dans la syphilis a fait l'objet de nombreuses recherches. Les méthodes d'investigation dans ce domaine sont nombreuses, mais leur application soulève certains problèmes. Nous exposerons l'essentiel de ces travaux.

Pour notre part, nous avons voulu étudier la sensibilité du tréponème de Reiter à ces différents antibiotiques, afin de comparer l'antibiogramme de ce germe à celui du tréponème de Schaudinn.

Nous allons donc décrire successivement :

1°- Les travaux effectués en 1944 par Eagle et Musselman, en 1949, par Eagle, Musselman et Fleischmann, en 1953, par Keller et Morton, étudiant l'action de la pénicilline, bacitracine, subtiline, et celle de l'érythromycine sur la souche Reiter.

2°- Nos recherches personnelles qui consistent en l'expérimentation de 15 antibiotiques sur le tréponème de Reiter.

3°- L'étude de l'activité de la pénicilline et des autres antibiotiques sur *Treponema pallidum* et comparaison avec l'antibiogramme de *Treponema Reiteri*.

4°- Conclusions.

1. Etude des expériences antérieures

Eagle et Musselman (22), en 1944, étudièrent l'action spirochéticide de la pénicilline in vitro, et son coefficient température. Leur technique est la suivante :

Ils utilisent "la souche Reiter de *Treponema pallidum*", et le milieu de Brewer au thioglycollate enrichi de 1/10 de sérum de lapin chauffé. Des cultures de 48 heures formant l'inoculum sont ajoutées en même temps que la pénicilline à du milieu frais. Les cultures sont examinées après 14 jours à 37 degrés.

Pour s'assurer de l'absence d'organismes viables, les tubes ne montrant pas de croissance sont soumis à un repiquage en milieu semi-solide, dans lequel les tréponèmes poussent en colonies isolées. Après l'étude de l'action spirochéticide, en relation avec les concentrations en germes et en pénicilline, et celle de la mobilité des tréponèmes, Eagle et Musselman concluent :

1°- Un petit inoculum est complètement tué par la pénicilline en 14 jours.

2°- La pénicilline n'est pas concentrée par les organismes qu'elle tue.

3°- En 8 heures, 0,25 Unités/cm³ de pénicilline rendent 90 à 99 % des germes non viables. Des concentrations plus fortes n'accélérent pas l'action de façon appréciable.

En 24 heures, la plupart des germes sont immobilisés, et beaucoup semblent dégénérer. Il y aurait donc une période initiale d'environ 4 à 8 heures, pendant laquelle le médicament produit des

changements irréversibles, dont le résultat est éventuellement la mort. Le système métabolique touché ne serait cependant pas immédiatement essentiel à la vie de la cellule, et il y aurait une période de plusieurs heures durant laquelle la mobilité et probablement les autres fonctions vitales demeurent inchangées.

La même technique est reprise en 1949, par Eagle, Musselman et Fleischman (23) pour l'étude de la bacitracine et de la subtiline.

Enfin en 1953, Keller et Morton (24) expérimentent l'érythromycine sur les souches tréponémiques de Kazan, Nichols et Reiter, et sur les P.P.L.O.

L'inoculum consiste en des cultures de 4 jours et la lecture des résultats est faite au microscope à fond noir le 6ème jour.

2. Recherches personnelles

Nous possédons au laboratoire, une souche de tréponème de Reiter, entretenue en milieu de Brewer par des repiquages effectués tous les 7 jours.

Technique : Dans une série de tubes contenant 9 cm^3 de milieu de Brewer additionné de sérum stérile de cheval, on ajoute des quantités variables d'antibiotique. Les tubes sont ensuite largementensemencés avec une culture âgée de sept jours et mis à l'étuve à 37° . La lecture définitive des résultats est effectuée au bout de sept jours de séjour à l'étuve et l'absence ou la présence du développement des germes est comparée au tube témoin ne contenant pas d'antibiotique. Chaque antibiotique expérimenté est, simultanément éprouvé vis-à-vis d'un germe banal sensible.

Résultats obtenus : Pénicilline. On se sert de la pénicilline G, Specia (a), dont un flacon contenant 100.000 unités est additionné de 5 cm^3 d'eau physiologique. 1 cm^3 des dilutions successives préparées à partir de cette solution-mère est ajouté au milieu de Brewer. Les concentrations finales en pénicilline par centimètre cube sont : 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,6 et 0,3 UI.

Les tubes sont ensuiteensemencés avec une quantité approximativement égale de tréponèmes de Reiter.

TABLEAU I

Unités de pénicilline par cc.	20	10	5	2,5	1,25	0,6	0,3	T témoin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	-	-	+	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	-	+++	+++

-, absence de culture ; +, développement faible
 ++, développement partiel; +++, développement abondant.

Un staphylocoque sensible sert de témoin (tableau I)

Ce tableau montre que le tréponème de Reiter est très sensible à l'action de la pénicilline, la dose bactériostatique minima se plaçant aux environs de 0,3 UI, et que cette sensibilité est à peu près égale à celle du staphylocoque employé.

Une unité internationale correspondant à 0,6 μ g on peut dire que la dose bactériostatique minima active est de 0,18 μ g environ.

Il est à noter que Scarpa (25), dans ses recherches sur l'action de la pénicilline sur le tréponème de Reiter, a trouvé les chiffres suivants :

action bactériostatique : 0,01 à 0,03 UI.

action bactéricide : 600 unités

tandis que pour Eagle et Musselman, la dose bactériostatique serait bien de 0,25 Unités/cm³.

Erythromycine. On se sert d'un produit américain : Erythro-cine, Lactobionate Abboth.

Doses employées : 50, 25, 12,5, 6,2, 3,1, 1,5, 0,75, 0,37, 0,18 μ g

Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau II).

TABLEAU II.

Erythromycine en μ g	50	25	12,5	6,2	3,1	1,5	0,75	0,37	0,18	Té- moin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++

Par conséquent, le tréponème de Reiter se montre très sensible à l'action bactériostatique de l'érythromycine, la dose minima active se situant aux environs de 0,37 μ g.

Pour le staphylocoque, cette dose est égale à 0,75 μ g.

Magnamycine (carbomycine). On utilise la magnamycine pure Clin-Comar (réf.42.464, titre 965).

Ce produit étant une base insoluble dans l'eau, il a été transformé par nous, d'une part en lactate et, d'autre part, en chlorhydrate, en ajoutant à la suspension en eau distillée, soit de l'acide lactique dilué, soit de l'acide chlorhydrique dilué jusqu'à pH 3,0.

Les doses finales employées en μ g étaient de : 50, 25, 12,5, 6,25, 3,1, 1,5, 0,75, 0,37 (tableau III)

TABLEAU III

Lactate de magnamycine	50	25	12,5	6,25	3,1	1,5	0,75	0,37	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	-	-	-	+	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++
Chlorhydrate de magnamyci- ne	50	25	12,5	6,25	3,1	1,5	0,75	0,37	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	-	-	-	+	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++

Par conséquent, la magnamycine, soit sous forme de lactate, soit sous forme de chlorhydrate, est un puissant agent bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter, la dose active limite étant environ de 0,37. Pour la souche de staphylocoque employée comme témoin, la dose limite était de 3,1 μg .

Terramycine. On utilise l'échantillon américain Pfizer Diagnostic Buffered Crystalline Terramycine.

Doses employées : 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,6 et 0,3 μg .

Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau IV)

TABLEAU IV

Terramycine en μg	20	10	5	2,5	1,25	0,6	0,3	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	-	+	++	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	+++	+++	+++

Donc la dose bactériostatique active limite, pour le tréponème de Reiter, est de 0,6 μg et pour le staphylocoque de 1,25 μg .

Tétracycline Diamant. Doses employées : 6, 3, 1,5, 0,75, 0,37, 0,18, 0,09 μg .

La souche de staphylocoque Oxford sert de témoin (tableau V)

Donc, la dose limite de 1,5 μg se montre bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter.

Pour le staphylocoque, cette dose est de 3 μg . Il est à noter que les mêmes résultats ont été obtenus avec le chlorhydrate de té-

Tableau V

Tétracycline en μg par cc	6	3	1,5	0,75	0,37	0,18	0,09	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++
Staphylocoque	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++

tracycline Rhône-Poulenc présenté sous le nom de sanclomycine vitaminée C.

Rovamycine. On se sert de spiramycine base Specia, cat. n°51 R.P.

On ajoute 30 cm³ d'eau distillée à 20 µg du produit. On obtient une solubilité complète après 24 heures de séjour à la glacière.

Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau VI)

TABLEAU VI

Rovamycine en µg	50	25	12,5	6,25	3,1	1,5	0,75	0,37	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	-	-	+	++	++	++	+++
Staphyloco- que	-	-	-	-	-	-	+	+++	+++

Par conséquent, le pouvoir bactériostatique de la rovamycine vis-à-vis du tréponème de Reiter est manifeste : absence de croissance microbienne en présence de 6,25 µg et développement faible et stoppé en présence de 3,1 µg.

La sensibilité du staphylocoque égale à peu près celle du tréponème de Reiter.

Chloramphénicol (chloromycétine).

On se sert du collyre à la tifomycine Roussel, à la concentration de 4 p.l.000.

Les dilutions finales exprimées en µg sont les suivantes : 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,2.

Une souche de *Proteus vulgaris* sert de témoin (tableau VII)

TABLEAU VII

Chloramphénicol en μ g par cc.	200	100	50	25	12,5	6,2	Témoin
Tr. de Reiter	-	-	-	+	++	++	+++
Proteus	-	-	-	-	+++	+++	+++

Par conséquent, la dose de 50 μ g de chloramphénicol empêche complètement la croissance des tréponèmes et les doses aux environs de 25 μ g exercent une action bactériostatique partielle,

Pour le Proteus, la dose bactériostatique limite est de 25 μ g.

Auréomycine (chlortétracycline) (Specia, Paris).

Doses employés : 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,1 μ g.

Une souche de colibacille sert de témoin (tableau VIII).

TABLEAU VIII.

Auréomycine en μ g	100	50	25	12,5	6,25	3,12	Témoin
Tr. de Reiter	-	-	+	++	+++	+++	+++
Colibacille	-	+	+++	+++	+++	+++	+++

Ainsi, la dose bactériostatique minima active de l'auréomycine vis-à-vis du tréponème de Reiter est de 25 μ g et vis-à-vis du colibacille de 50 à 100 μ g.

Bacitracine (Diamant). Doses décroissantes employées : de 50 à 0,37 unités.

Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau IX).

TABLEAU IX

Bacitracine en unités	50	25	12,5	6,25	3,1	1,5	0,75	0,37	Témoin
Tr.de Reiter	-	-	+	++	++	++	++	++	+++
Staphyloco- que	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++

Par conséquent, la dose bactériostatique active limite est, pour le tréponème de Reiter de 12,5 unités et pour le staphylocoque de 6,25 unités.

1 mg de bacitracine contenant 50 unités, le calcul montre que le tréponème de Reiter est sensible à la dose de 250 μ g et le staphylocoque à celle de 125 μ g.

Streptomycine. Le sulfate de dihydrostreptomycine Diamant est expérimenté.

Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau X).

TABLEAU X.

Doses en μ g	1000	500	200	100	50	25	12,5	Témoin
Tr. de Reiter	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Staphylo- coque	-	-	-	-	-	-	+++	+++

Ainsi, la streptomycine, même à des doses considérables (1.000 μ g), se montre dépourvue d'action bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter.

Le staphylocoque employé se montre sensible à la dose limite de 24 μ g.

Soframycine. Les ampoules de sulfate de framycétine Roussel, contenant 10 mg de produit dissous dans 1cm^3 d'excipient aqueux, servent à l'expérience.

Une souche de bacille pyocyanique sert de témoin (tableau XI)

TABLEAU XI.

Soframycine en μg	800	400	200	100	50	25	12,5	6,25	Témoin
Tr.de Reiter	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bac.pyocyanique	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++

Par conséquent, la soframycine est dépourvue d'action bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter, même à la dose considérable de 800 μg .

Le bacille pyocyanique se montre sensible à la dose limite de 25 μg .

Viomycine. Le sulfate de viomycine Clin-Comar est utilisé. Une souche de staphylocoque sert de témoin (tableau XII).

TABLEAU XII.

Viomycine en μg	800	400	200	100	50	25	12,5	6,2	Témoin
Tr. de Reiter	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Staphylocoque	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++

Le tréponème de Reiter se montre donc résistant à l'action bactériostatique d'une dose considérable (800 μg) de viomycine.

La souche de staphylocoque employée se montre sensible à la dose minima de 12,5 μg .

Tyrothricine (solutricine). On se sert des ampoules de solutricine hydrosol de Roger Bellon, contenant 2 g de solutricine dissous dans 100 cm³ d'excipient hydro-alcoolique.

Dose maxima employée : 400 µg.

Une souche de *Bacillus subtilis* sert de témoin (tableau XV)

TABLEAU XV

Tyrothricine en µg	400	200	100	50	Témoin
Tr.de Reiter	+++	+++	+++	+++	+++
B.subtilis	-	+++	+++	+++	+++

Par conséquent, la tyrothricine est dépourvue d'action bactériostatique, vis-à-vis du tréponème de Reiter à la dose de 400 µg, dose empêchant la croissance de *Bacillus subtilis*.

Discussion -

Les quinze antibiotiques expérimentés par nous peuvent être divisés en deux groupes :

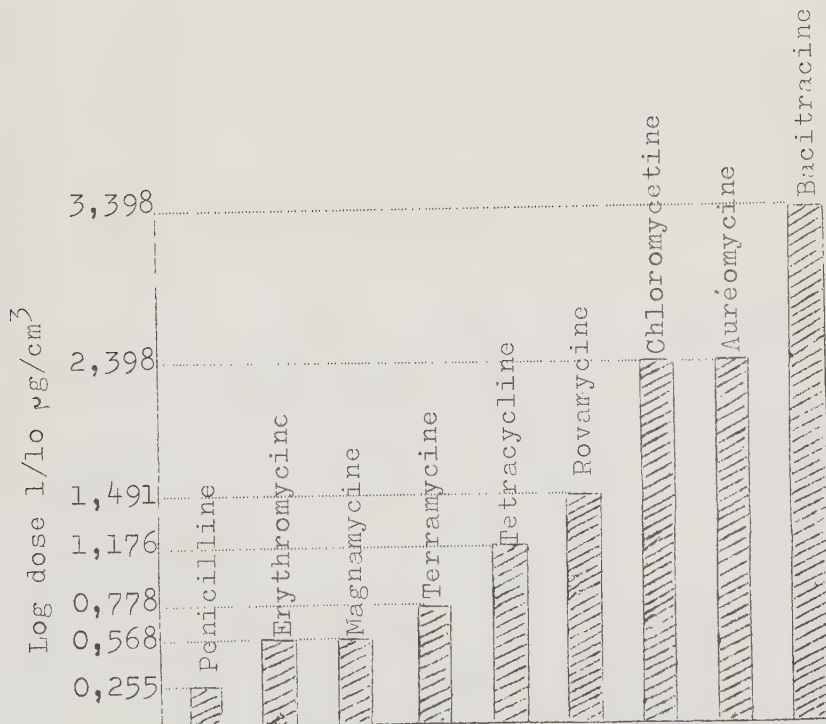
1°- Antibiotiques dépourvus d'action sur le tréponème de Reiter : sofranycine, viomycine, polymyxine, néomycine, tyrothricine, et streptomycine.

2°- Antibiotiques actifs vis-à-vis du tréponème de Reiter : pénicilline, érythromycine, magnanycine, terranycine, rovanycine, tétracycline, chloramphénicol, auréomycine et bacitracine.

Le graphique I montre l'activité des antibiotiques du deuxième groupe.

Existe-t-il un parallélisme entre la sensibilité du tréponème de Reiter et celle du tréponème de Schaudinn vis-à-vis de ces quinze antibiotiques ?

C'est ce que nous allons voir maintenant.



3. L'action de la pénicilline et des autres antibiotiques sur *Treponema pallidum* - Comparaison avec l'antibiogramme du tréponème de Reiter.

Nous étudierons en premier lieu les méthodes générales d'expérimentation servant à établir les diverses sensibilités, ce qui nous permettra par la suite de les comparer à la méthode que nous proposons. Puis nous exposerons les résultats de ces travaux, parallèlement à ceux que nous avons obtenus pour le tréponème de Reiter.

I°- Méthodes d'expérimentation de la sensibilité de *Treponema pallidum* aux divers antibiotiques.

La sensibilité du tréponème de Schaudinn aux antibiotiques n'a pu être éprouvée suivant la technique classique puisqu'il ne peut être cultivé. Plusieurs méthodes sont utilisées, soit *in vitro*, soit *in vivo* chez l'animal ou chez l'homme.

C'est ainsi que Dunham, Hamre, Mc.Kee et Rake (26) d'une part, Ellen Nell (27) d'autre part, étudièrent, *in vitro*, l'action immobilisante de la pénicilline sur *Treponema pallidum*.

Les tréponèmes sont mis en présence de dilutions de pénicilline pendant 18 heures à 35°C. Après ce temps, la mobilité est déterminée au microscope à fond noir et on note la concentration de l'antibiotique qui immobilise 50 % des organismes.

Mais une technique beaucoup plus employée consiste dans l'observation des résultats du traitement antibiotique chez des lapins

porteurs de chancres scrotaux: étude du temps de disparition des tréponèmes, de cicatrisation des lésions, enfin, test de stérilisation par passages ganglionnaires.

Turner et Schaeffer (28) étudiant ainsi comparativement différents antibiotiques, virent leurs expériences s'étendre sur 103 lapins. Ils opéraient avec la souche tréponémique Nichols.

Une autre technique, in vivo, utilisée par Levaditi et Vaisman (29) pour tester la pénicilline, et par Drouhet (30) pour étudier l'activité de la streptomycine, emploie des souris syphilitisées (souche Gand), chez lesquelles on recherche la présence des tréponèmes dans les zones électives (nez, revêtement cutané du dos, du périnée, du crâne, ganglions lymphatiques et musculature lisse du rectum), selon la méthode de Stroesco et Vaisman.

Dans ces méthodes expérimentales, un lot d'animaux non traités et infectés à la même dose, sert de témoin.

Enfin des faits cliniques (31) nombreux sont venus compléter ces études. Chez les malades traités on note alors, la disparition des tréponèmes, la cicatrisation des lésions, la négativation de la sérologie. Il est de plus essentiel, d'apprécier l'importance relative des rechutes et des réinfections.

Ces tests d'activité tréponémicide qui tendaient d'abord à confirmer l'action de la pénicilline, ont été appliqués ensuite à la plupart des antibiotiques.

2°- Résultats et comparaison.

En ce qui concerne les six antibiotiques dépourvus d'action sur le tréponème de Reiter (soframycine, viomycine, polymyxine, néomycine, tyrothricine et streptomycine), il semble qu'ils soient également inactifs dans la syphilis, car la bibliographie suffisamment abondante concernant le traitement de cette affection par les antibiotiques ne mentionne nulle part aucun d'eux. Signalons toutefois que Vandeputte (32) avait observé une faible action de la ty-

rothricine sur la mobilité du tréponème de Schaudinn.

Par contre, les neuf antibiotiques actifs vis-à-vis du tréponème de Reiter (pénicilline, érythromycine, magnamycine, terramycine, rovamycine, tétracycline, chloramphénicol, bacitracine et aureomycine) ont fait l'objet de nombreuses recherches cliniques et expérimentales d'où il ressort que leur action thérapeutique, préventive et tréponémicide est indiscutable.

1°- Il nous semble inutile de nous étendre sur la pénicillinothérapie dans la syphilis, car elle a déjà fait ses preuves, la pénicilline seule ou associée à d'autres médications étant considérée comme le plus puissant agent thérapeutique dans la syphilis. Or nos expériences sur le tréponème de Reiter ont également prouvé que la pénicilline se place en tête des antibiotiques actifs.

2°- L'érythromycine a été expérimentée chez l'homme et chez les animaux de laboratoire par Cordice jr, Avecilla, Marmell, Shidlovsky et Prigot (33), par Huriez, Desmons et Baelden (34) par Huriez, Desmons, Baelden et Gasnault (35) et par Turner et Schaeffer (28). Dans leurs conclusions, tous ces auteurs sont d'accord sur l'action favorable de l'érythromycine dans la syphilis primaire et secondaire de l'homme, et dans la syphilis expérimentale du lapin.

3°- Magnamycine (carbomycine). La magnamycine a été expérimentée avec succès dans la syphilis primaire de l'homme par Buckinger, Hookings et Garsa (36) et par Turner et Schaeffer chez les lapins syphilitiques. Ces derniers auteurs placent la magnamycine et l'érythromycine immédiatement après la pénicilline quant à leur action antisypilitique.

4°- Terramycine (oxytétracycline). Nombreux sont les auteurs qui ont constaté l'action indiscutable de la terramycine dans la syphilis de l'homme et des animaux de laboratoire. Citons, à titre d'exemple, les travaux de Robinson et Robinson jr (37), de Schoch et Alexander (38), de Hendricks et coll.(39), de Irgang et Alexander (40) et de Bessemans et Vandeputte (41). Ces deux derniers au-

teurs ont trouvé chez le lapin la dose thérapeutique très voisine de la dose toxique.

Enfin Levaditi et Vaisman (42 et 43) concluent de leurs recherches sur le lapin que "la terramycine apparaît comme un médicament antisyphilitique de tout premier ordre".

5°- Rovamycine. La rovamycine, connue par son action particulièrement manifeste dans les infections dues aux germes Gram positifs, n'a été, à notre connaissance, étudiée ni dans la syphilis humaine, ni dans la syphilis expérimentale. Par conséquent, son pouvoir bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter s'étant montré assez élevé, nous avons cru qu'il convenait de nous rendre compte nous-mêmes de son action dans la syphilis expérimentale du lapin.

Voici le protocole de cette expérience :

Un lapin est inoculé aux deux testicules avec la souche Nichols (b). Six semaines après, il présente deux gros chancres indurés d'environ 4 à 5 cm de longueur, couverts de croûtes et renfermant de nombreux tréponèmes mobiles. Il reçoit alors trois injections sous-cutanées successives de 100 mg de rovamycine par kilogramme d'animal. Dès le lendemain et le surlendemain, on constate par l'examen à l'ultra microscope et la coloration au Fontana-Tribondeau, une diminution notable des tréponèmes et la présence de nombreuses formes immobiles et despiralées. La disparition totale des tréponèmes a été constatée le quatrième jour après le début du traitement, et on assiste en même temps au ramollissement net des chancres.

La résorption complète des deux infiltrations a lieu le huitième jour après le début du traitement, et il ne reste que deux croûtes, dont l'une se détache le quinzième jour et l'autre le vingtième jour. Nous n'avons pas poussé plus loin nos investigations sur ce sujet, nous ignorons donc si la rovamycine, aux doses employées, est capable de provoquer une stérilisation complète, et quelle est la dose minima active de cet antibiotique.

Néanmoins, notre expérience montre que l'action thérapeutique de la rovamycine dans la syphilis du lapin est incontestable.

6°- Tétracycline et son composé chloruré chlortétracycline ou auréomycine.

Ces antibiotiques ont été expérimentés avec succès chez l'homme par Kierland et O'Leary (44), dans la neurosyphilis, par Irgang et Alexander (45); par O'Leary, Kierland et Herrell (46), par Rodriguez, Plotke, Weinstein et Harris (47), par Olansky, Hogan, Taggart, Landman et Robin (48), par Taggart, Romansky et Landman (49), par Rodriguez, Weinstein et Parkhurst (50), par Robinson et Robinson jr (51), etc...

Levaditi et Vaisman (52) ont constaté une diminution rapide des tréponèmes chez des souris syphilitisées, et Wiggall, Zheutlin et Trice (53) ainsi que les auteurs déjà cités, Turner et Schaeffer, chez le lapin.

7°- Le chloramphénicol a été expérimenté par de très nombreux auteurs chez des malades syphilitiques et chez des animaux atteints de syphilis expérimentale.

Des résultats favorables ont été obtenus dans la syphilis primaire, secondaire et latente par Taggart, Romansky et Landman, par Robinson et Robinson jr, par Romansky, Olansky, Taggart, Landman et Robin (54), par Robinson, Fox et Duval (55) (ces derniers auteurs ayant constaté l'action thérapeutique favorable, mais l'action nulle sur *Treponema pallidum* in vitro) et par Willcox (56). Vaisman (57) a constaté l'action thérapeutique du chloramphénicol chez des lapins et chez des souris, toutefois, il n'a obtenu la stérilisation complète que d'une façon irrégulière.

Enfin, Gruhzeit et Fiskén (58) concluent à l'action favorable de cet antibiotique chez le lapin.

8°- Bacitracine. Cet antibiotique ne semble pas avoir été expérimenté chez l'homme. Chez le lapin, des résultats favorables ont

été enregistrés par Eagle, Musselman et Fleischman (23). Toutefois ces auteurs signalent que l'activité de la bacitracine est dix fois plus faible que celle de la pénicilline. Ils ont aussi noté son action certaine sur le tréponème de Reiter.

9°- Streptomycine - La streptomycine, dans nos expériences in vitro, s'est montrée inactive vis-à-vis du tréponème de Reiter à la dose de 1000 µg. Or, certains auteurs signalent son activité, d'ailleurs très faible, dans la syphilis. Ainsi, Dunham et Rake (59) concluent de leurs expériences sur l'homme que la streptomycine n'est curative qu'à des taux trois mille fois supérieurs à ceux de la pénicilline.

D'après Fiskén et Gruhzt (60), 210.000 unités par kilogramme de lapin s'étaient révélées inopérantes.

Sur le lapin, également, Levaditi et Vaisman ont montré que la streptomycine faisait disparaître les tréponèmes du chancre en six à treize jours, mais que son action n'était pas stérilisante, les passages ganglionnaires restant positifs.

Drouhet (30) a obtenu une stérilisation chez la souris, mais à des doses énormes. Citons, enfin, la thèse de Carteaud (31) qui tire la conclusion suivante des travaux sur la streptomycine :

"La streptomycine n'est peut-être pas sans action aucune sur le tréponème..., mais cette action reste très faible, pratiquement nulle aux doses habituelles, parfois même encore pour des doses fortes. C'est, en tout cas, celui qui a le moins d'action parmi toute la gamme des antibiotiques".

Pour terminer cette discussion, il nous semble intéressant de comparer nos résultats obtenus in vitro avec le tréponème de Reiter, à ceux obtenus in vivo sur le lapin par Turner et Schaeffer. Ces derniers auteurs, en expérimentant sur des lapins syphilitiques, sont arrivés à la conclusion que l'efficacité des antibiotiques est, en ordre décroissant, la suivante : pénicilline, érythromycine et ma-

gnamycine, terramycine et auréomycine, chloramphénicol, streptomycine.

Or, d'après nos recherches sur le tréponème de Reiter, cet ordre se présente de la façon suivante: pénicilline, érythromycine et magnamycine, terramycine, rovamycine, tétracycline, auréomycine et chloramphénicol, bacitracine.

Il résulte de cette comparaison, que les résultats obtenus, in vitro avec le tréponème de Reiter, se superposent à ceux obtenus, in vivo, sur les lapins syphilitiques.

a) Nous remercions vivement les firmes : Clin-Comar, Diamant et Specia, qui ont mis gracieusement à notre disposition des échantillons de divers antibiotiques.

b) Le lapin nous a été fourni par le Dr. Vaisman de l'Institut Alfred-Fournier, que nous remercions vivement pour son obligeance.

4. Conclusions

1°- Les antibiotiques : soframycine, viomycine, polymyxine, néomycine et tyrothricine, dont l'activité dans la syphilis n'a jamais été signalée, sont, en même temps, dépourvus de pouvoir bactériostatique vis-à-vis du tréponème de Reiter.

En ce qui concerne la streptomycine, qui s'est montrée inactive dans nos expériences sur le tréponème de Reiter, son action sur *Treponema pallidum* paraît douteuse.

2°- Les antibiotiques : pénicilline, érythromycine, magnamycine, terramycine, rovamycine, tétracycline, chloromycétine, bacitracine et auréomycine, doués d'un pouvoir thérapeutique certain dans la syphilis de l'homme et des animaux de laboratoire, se montrent également actifs vis-à-vis du tréponème de Reiter.

3°- La sensibilité plus ou moins prononcée vis-à-vis des divers antibiotiques semble être la même pour *Treponema Reiteri* et pour *Treponema pallidum*.

4°- Il semble donc, jusqu'à avis contraire, que l'expérimentation in vitro, facile et économique, sur le tréponème de Reiter, peut servir de test dans l'étude de l'action thérapeutique des antibiotiques dans la syphilis, et remplacer ainsi avantageusement les recherches dangereuses, longues et onéreuses chez l'homme et chez les animaux de laboratoire.

En effet, si l'introduction de la pénicilline dans le traitement de la syphilis a transformé celui-ci de façon radicale, elle n'a pas résolu entièrement le problème de la thérapeutique antisyphilitique, et ceci, principalement, à cause des complications qui

peuvent survenir à la suite de l'administration de cet antibiotique (40): fièvre, éruptions cutanées, réactions locales, et surtout, réaction de Jarisch Herxheimer dont deux cas de collapsus mortel ont été rapportés.

D'autre part, la pénicillino-résistance, niée par certains auteurs, paraît devoir être admise, tout au moins de façon "partielle ou relative" par Degos (61). D'ailleurs Kierland et O'Leary (44) étudiant l'auréomycine la préconisent chez les malades atteints de neurosyphilis "résistants ou allergiques à la pénicilline".

Ces deux problèmes de résistance et d'allergie possibles à la pénicilline soulignent donc l'intérêt de la recherche de nouveaux antibiotiques tréponémicides. Les essais de traitement de la syphilis expérimentale du lapin ou de la souris ne permettent pas de conclure catégoriquement de l'animal à l'homme, tant cette affection se comporte différemment vis-à-vis des diverses espèces, mais peuvent apporter une orientation très utile. Parmi les tests de l'activité tréponémicide, seule l'expérimentation directe sur le malade peut donner une certitude absolue de l'efficacité de l'antibiotique, mais elle comporte de gros risques pour le patient. Par contre, l'expérimentation in vitro, sur le tréponème de Reiter, permettrait, semble-t-il d'éliminer a priori les antibiotiques inactifs, de l'expérimentation clinique ultérieure irremplaçable. Ce pourrait donc être seulement un test négatif.

II. ACTION DE DIVERS AGENTS CHIMIOTHERAPIQUES SUR LE TREPONEME DE REITER

Le tréponème de Reiter étant sensible aux mêmes antibiotiques et au même degré que le tréponème de Schaudinn, nous nous sommes demandés si le même parallélisme pouvait être observé, en ce qui concerne l'action de divers agents chimiothérapiques.

Les sels de mercure, d'arsenic, de bismuth, d'or, de vanadium et d'étain ont été expérimentés.

I°- Sels de mercure.

Expérience I

On expérimente le cyanure de mercure, aux concentrations suivantes : 1 mg, 0,5, 0,25, 0,12, 0,06, 0,03, 0,015, 0,0075 mg par cm³

Les tubes sontensemencés avec le tréponème de Reiter, en déposant au fond du tube quelques gouttes de culture.

Résultat

HgCN	1mg	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03	0,015	0,0075
Tr.de Reiter	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++

Par conséquent, le cyanure de mercure empêche la multiplication des tréponèmes à la concentration de 0,25 mg (environ).

Expérience II

Même dispositif que dans l'expérience précédente, mais avec le subliné.

Cl ² Hg	1mg	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03
Tr. de Reiter	-	+	++	++	+++	+++

Par conséquent, l'action bactériostatique du sublimé est, à peu de chose près, égale à celle du cyanure de mercure.

2°- Sels d'arsenic.

Expérience I.

On expérimente le stovarsol sodique Specia (m-acétylamino-p.hydroxyphényl-arsinate de sodium)

Doses définitives employées : 10 mg , 5, 2,5, 1,25, 0,6.

Résultat

Stovarsol	10	5	2,5	1,25	0,6
Tr.de Reiter	-	+	+	++	+++

Par conséquent, l'action bactériostatique du stovarsol se situe entre 1 et 2 mg par cm³

Expérience II.

Action de l'acétylarsan Specia (m.acétylamine-p.hydroxyphénylarsinate de diéthylamine).

Concentrations définitives en mg par cm³:

2,36, 1,18, 0,59, 0,29, 0,14

Résultat.

Acétylarsan	2,36	1,18	0,59	0,29	0,14
Tr.de Reiter	-	-	++	++	+++

Par conséquent, l'action bactériostatique limite d'acétylarsan se situe entre 0,30 et 0,60 mg par cm³.

3°- Sels de bismuth.

Expérience I.

On expérimente le bismuthio-propanol-sulfonate de sodium de Lumière.

Concentrations définitives en mg employées :

1, 0,5, 0,25, 0,12, 0,06, 0,03.

Resultat

Sel de bismuth	1	0,5	0,25	0,12	0,06	0,03
Tr. de Reiter	-	-	-	+	++	+++

Par conséquent, l'action bactériostatique de ce sel de bismuth se situe entre 0,06 et 0,12 mg: par cm^3 . Il est à noter que le thio-propanol sulfonate de sodium, sans bismuth, est dépourvu de toute action bactériostatique, même à la dose considérable de 10 mg: par cm^3 .

Expérience II.

On expérimente le bismuthotartrate de sodium et de potassium.

Doses employées : 0,1, 0,05, 0,025 mg par cm^3 .

Sel de bismuth	0,1	0,05	0,025
Tr. de Reiter	-	-	++

Par conséquent, la dose limite active du bismuthotartrate de sodium et de potassium est de 0,025 mg par cm^3 .

4°- Sels d'Or

On expérimente l'allochrysine Lumière (Auro-thiopropanol sulfonate de sodium).

Doses employées : 1,25, 0,62, 0,31, 0,15, 0,075, 0,037.

Résultat.

Allochrysine	1,25	0,62	0,31	0,15	0,075	0,037
Tr.de Reiter	-	-	+	++	++	+++

Par conséquent, la dose bactériostatique limite d'Allochrysine se situe à environ 0,15 mg. par cm³.

5°- Sels de vanadium -

On expérimente le chlorure de Vanadium.

Doses employées : 0,5, 0,25, 0,12, 0,06 mg.

Résultat.

Chlorure de Vanadium.	0,5	0,25	0,12	0,06
Tr.de Reiter	-	-	+	+++

Par conséquent, la dose bactériostatique limite du chlorure de Vanadium est de 0,12 mg. par cm³.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'examiner l'action bactériostatique d'un élément inactif dans la syphilis. On a choisi le chlorure stanneux qui s'est montré complètement inactif à la dose de 1 mg par cm³.

En résumé, tous les sels actifs dans la syphilis se montrent également actifs vis-à-vis du tréponème de Reiter. Ce dernier semble donc pouvoir servir de test pour l'étude de l'action thérapeutique de divers sels dans la syphilis. Le seul inconvénient de cette méthode réside en la formation dans certains cas, d'un précipité dans le milieu de culture employé, ce qui rend parfois la lecture des résultats difficile. Toutefois, ce précipité ne s'observe qu'en présence de très fortes doses des sels, et il est absent dans les tubes contenant des doses faibles, mais encore actives vis-à-vis du tréponème de Reiter.

Il nous a paru intéressant, de calculer pour chacun de ces produits, la quantité réelle de métal ou de métalloïde actif, correspondant à la dose bactériostatique limite de la substance expérimentée.

Nous avons ainsi trouvé les valeurs suivantes :

Cyanure de mercure : 0,25 mg	Hg	0,22 mg
Chlorure mercurique: 0,25 mg	Hg	0,18 mg
Stovarsol : 1 mg	As	0,27 mg
Acétylarsan : 0,6 mg	As	0,12 mg
Allochrysine : 0,15 mg	Au	0,05 mg
Bismuthiopropanol : 0,06 mg sulfonate de sodium	Bi	0,015 mg
Tartro-bismuthate de Na et de K : 0,025 mg	Bi	0,012 mg
Chlorure de Vanadium : 0,12 mg	V	0,05 mg

On peut ainsi remarquer l'activité à peu près équivalente du mercure et de l'arsenic se situant autour de la valeur $0,20 \text{ mg/cm}^3$; celle plus grande de l'or, $0,05 \text{ mg/cm}^3$ et, enfin la supériorité du bismuth, dont la dose active $0,01 \text{ mg par cm}^3$, est absolument identique, qu'il s'agisse du bismuthiopropanol sulfonate de sodium, ou du tartrobismuthate de sodium et de potassium.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Levaditi et coll.(62) dans leur étude du mécanisme de l'action chimiothérapique du bismuth et de l'or dans la syphilis expérimentale du lapin. Leurs conclusions sont les suivantes :

1°- le bismuth est plus toxique que l'or (3 p.l),

2°- le bismuth est plus actif au point de vue curatif : il agit à la dose de 0,002 g à 0,001 g par kilog de l'animal, tandis que l'or agit à la dose de 0,005 g par kilog:

le rapport est donc de 5 à 1. Or, nos expériences, in vitro, ont donné également la proportion de 5 pour 1, si l'on compare l'action bactériostatique du bismuth et de l'or.

III. ESSAIS DE CREATION DE RACES ANTIBIOTICO-RESISTANTES

DU TREPONEME DE REITER

De même que pour toutes les affections traitées par les antibiotiques, le problème s'est posé pour la syphilis, de savoir s'il était possible de trouver des races de tréponèmes résistantes aux antibiotiques actifs.

De nombreuses observations ont été effectuées à ce sujet en clinique, et d'autre part des expériences ont été réalisées au laboratoire.

De notre côté, nous nous sommes demandés si le tréponème de Reiter, qui possède le même antibiogramme que *Treponema pallidum*, réagirait de la même façon que celui-ci, si on le soumettait de façon continue, et pendant un certain temps, à l'action d'un antibiotique.

1°- Que connaît-on de la pénicillino-résistance de *Treponema pallidum* ?

2°- Peut-on créer des races de tréponème de Reiter antibiotico-résistantes ?

Voilà, les deux questions que nous avons essayé d'élucider dans ce chapitre.

1 - Que connaît-on de la pénicillino-résistance de *Treponema pallidum*.

L'observation clinique n'a pas permis de mettre en évidence des souches pénicillino-résistantes au cours des traitements de la syphilis par la pénicilline.

Une seule publication, celle de Bolger^[63], en 1957, signale

la récédive d'une roséole syphilitique après traitement par 15 millions de pénicilline, chez un sujet atteint d'hépatite chronique avec diabète. Selon l'auteur, ce serait le premier cas certain de pénicillino-résistance (partielle) relative d'une syphilis secondaire, chez un sujet atteint de lésions viscérales.

Chez le lapin, les expériences de Probey (64) et de Beerman, Nichols, Buerk et Ford (65) de même que celles de Hollander et Turner, ont montré l'impossibilité d'obtenir chez cet animal, des souches pénicillino-résistantes.

Probey tenta de produire une souche de *Treponema pallidum* résistante à la pénicilline, dans la syphilis expérimentale. Ceci, dans le but de déterminer si une forte dose de pénicilline, administrée comme agent prophylactique en présence d'une syphilis inconnue, peut rendre le tréponème résistant.

Voici le détail de son expérimentation :

La souche résistante est obtenue à partir d'un lapin employé pour l'étude de l'efficacité de la pénicilline comme agent tréponémicide pour la prévention de la transmission de la syphilis par transfusion.

Le matériel de transfusion consiste en du sang de lapin normal, ensemencé avec une suspension saline de *Treponema pallidum*. Le sang est divisé en 3 parts. La première reçoit 60 unités de pénicilline par cm^3 ; la deuxième 6 unités/ cm^3 , la troisième sert de témoin et n'est pas additionnée de pénicilline. Les trois échantillons sont conservés au réfrigérateur jusqu'à l'inoculation à l'animal.

Les lapins (3 dans chaque groupe) sont inoculés dans la veine et les testicules, soit une heure après l'addition de la pénicilline, pour tester l'action tréponémicide de la pénicilline dans les transfusions immédiates, soit 1, 2 ou 3 jours après l'addition de la pénicilline, pour se placer dans les conditions des banques du sang.

Avec 6 unités par cm^3 , une heure après, il y a transmission de la syphilis, un jour après, pas de syphilis.

La souche utilisée par Probey fut obtenue à partir d'un des lapins transfusés une heure après l'addition de pénicilline. Le lapin, inoculé avec $19,6 \text{ cm}^3$ de la suspension dans le sang de *Treponema pallidum*, avait reçu approximativement, 44 unités de pénicilline par kg, un total de $117,6$ unités et approximativement $1,08 \text{ cm}^3$ de la suspension saline de *Treponema pallidum*.

L'action de la pénicilline s'exerçait donc in vitro, pendant l'heure qui précédait la transfusion, et in vivo, après la transfusion.

Le lapin développa des lésions positives au microscope à fond noir, dans l'espace de 39 jours après la transfusion.

Cette même souche subit 5 passages sur l'animal. Pour les premier, deuxième et troisième passage, la syphilis de l'animal fut traitée avec une seule dose d'environ 44 unités de pénicilline par kg de poids de l'animal, dose unique, massive, subcurative, comparable à une dose humaine de 3 millions d'unités. Dans le premier passage (transfusion expérimentale) la pénicilline fut administrée comme agent prophylactique, et dans les deux suivants, les animaux furent traités après le développement des lésions syphilitiques.

Le quatrième animal inoculé avec la souche "dite résistante", ne reçut aucun traitement, et fut utilisé pour produire une émulsion du tissu testiculaire infecté. Celle-ci servit à inoculer des lapins pour déterminer si la souche était devenue résistante à la pénicilline.

Deux groupes de lapins furent inoculés le même jour, l'un avec la souche dite résistante, l'autre avec la souche normale. Tous les lapins développèrent des lésions positives au microscope à fond noir. Les deux groupes, excepté un témoin, reçurent un traitement identique à partir du 48ème jour après l'infection. La dose par kilogramme fut administrée en 20 fois à 4 heures d'intervalle. Les

transferts de tissus furent faits sur tous les lapins survivants dans une période de 72 à 96 jours, après le traitement. Les deux souches étaient de même origine (Nichols) et adaptées parfaitement à l'animal.

Le pourcentage des guérisons fut sensiblement identique avec l'une et l'autre souche.

Et l'auteur conclut : "La souche Nichols de *Treponema pallidum*, dans la syphilis expérimentale du lapin, n'est pas rendue résistante à la pénicilline par une seule dose massive, subcurative de pénicilline dans chacun des 3 passages consécutifs sur le lapin".

De même, les expériences de Hollander et Turner effectuées in vivo, sur le lapin, montrèrent qu'un traitement pénicilliné, à doses subcuratives, pendant 20 semaines, ne peut amener la production d'une résistance du tréponème chez le lapin infecté immédiatement avant.

2 - Peut-on créer des races de tréponèmes de Reiter antibiotico-résistantes?

La technique que nous avons employée consiste en repiquages multiples et successifs des souches de tréponème de Reiter, ayant donné une croissance faible en présence des doses actives limites de l'antibiotique choisi. Les repiquages sont effectués sur le milieu de Brewer additionné de doses de plus en plus fortes de cet antibiotique. Les trois antibiotiques suivants ont été expérimentés : la pénicilline comme la plus active, le chloramphénicol et l'auréomycine comme les moins actifs.

I°- Pénicilline - Les repiquages ont été effectués dans des tubes de milieu de culture contenant de la pénicilline aux concentrations de 0,2 unités/cm³, puis de 0,3 unités/cm³. L'intensité de la culture, faible au départ (+), est restée toujours la même. Aucune résistance accrue n'a été constatée après cinq repiquages successifs effectués à huit jours d'intervalle.

2°- Chloramphénicol - La concentration de l'antibiotique était de $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, et l'intensité de la culture a toujours été notée (+). Aucune résistance accrue n'a été constatée après 17 repiquages successifs, à des intervalles variant de 3 à 7 jours.

3°- Auréomycine - La concentration de l'antibiotique était de $10 \mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Même résultat négatif après 10 repiquages à des intervalles variant de 3 à 7 jours. Par conséquent, il semble que le tréponème de Reiter est incapable de s'adapter à la présence de l'antibiotique dans le milieu de culture et de créer ainsi des races antibiotico-résistantes.

Nous venons de prendre connaissance du travail de P. Gastinel, P. Collart et F. Dunoyer, communiqué dans les Annales de l'Institut Pasteur (Avril 1959). Ces auteurs étudient "l'action de la pénicilline sur le tréponème de Reiter pour déterminer si le parasite est susceptible d'acquérir une résistance in vitro, vis-à-vis de cet antibiotique".

Ils utilisent deux méthodes : d'une part, la méthode des contacts prolongés et des passages successifs, identique à celle que nous avons nous-même employée; et d'autre part, la méthode des contacts momentanés. Leurs résultats sont identiques à ceux que nous avons obtenus:

"après 15 passages successifs, le tréponème de Reiter n'a pu donner une race pénicillino-résistante progressive et manifeste".

Cependant, poursuivant plus loin leur étude, ils constatent que "si les doses bactériostatiques ou bactéricides de la pénicilline ne sont pas très différentes pour le tréponème de Reiter habitué à vivre avec l'antibiotique et pour le tréponème neuf, par contre, le développement des cultures de ces deux variétés accuse de fortes dissemblances soulignant l'acquisition d'un comportement nouveau".

Ceci leur a donc permis d'introduire la notion de tolérance,

"la tolérance étant la sélection, dans une population bactérienne, de germes capables de pousser à des concentrations subinhibitrices".

3 - Conclusion -

Le tréponème de Reiter se comporte donc, à ce point de vue, comme *Treponema pallidum*.

Il existe donc une différence fondamentale entre la stabilité des tréponèmes de Reiter et de Schaudinn vis-à-vis des antibiotiques, et la plasticité de divers spirilles et trypanosomes, lesquels s'adaptent rapidement à l'action bactéricide des anticorps et des arsenicaux, et créent facilement des races résistantes spécifiques.

IV. PROBLEME DE L'IDENTITE DU TREPONEME DE REITER

ET DU TREPONEME PALE

Nous avons pu établir ainsi la similitude remarquable que présentent *Treponema Reiteri* et *Treponema pallidum*, en ce qui concerne les points suivants : sensibilité aux antibiotiques, sensibilité aux agents minéraux, impossibilité de créer des races antibiotico-résistantes. De plus, nous n'oublierons pas, évidemment, l'antigène excellent que fournit le tréponème de Reiter, pour la sérologie de la syphilis, dans les réactions de déviation du complément, ou dans les réactions de floculation.

D'autre part, l'isolement de la souche Reiter date des travaux effectués dans le but d'obtenir des cultures de *Treponema pallidum*. Mais nous allons voir que le fait même des conditions imprécises de cet isolement pose lui-même déjà un problème.

En effet, dès 1911, Noguchi avait prétendu avoir été capable d'isoler et de conserver en culture, *Treponema pallidum*. De même, Nakano, en 1913, publia plusieurs articles selon lesquels il avait pu obtenir des repiquages. A partir de ces cultures, Noguchi et Nakano produisaient la "Luetin" avec laquelle ils pouvaient obtenir des cuti-réactions positives chez les syphilitiques.

Mais ces cultures ne purent être reproduites et les découvertes de Noguchi et Nakano ne purent être confirmées.

C'est plus tard, de 1922 à 1925, que Wasserman et Ficker, ainsi que Reiter, isolèrent à partir de matériel syphilitique humain des souches virulentes de *Treponema pallidum*, parmi lesquelles la souche B 36, souche Reiter.

Or, cette souche perdit sa virulence....

Il existe d'autres souches de tréponèmes cultivés à partir des

lésions syphilitiques de l'homme et du lapin, et supposés être le tréponème pâle. Eagle et Germuth (66) citent notamment : la souche Noguchi, isolée des lésions syphilitiques humaines et conservée sur milieu artificiel; la souche Kroo', cultivée en 1928 par Kroo et Schulze à partir de la cornée d'un lapin syphilitique; la souche Nichols, à différencier de la souche pathogène, et cultivée en 1929 sur milieu artificiel à partir de la souche Nichols entretenue sur le lapin (depuis, de nouveaux essais se sont toujours montrés infructueux); Eagle et Germuth signalent encore la souche Reiter et la souche Kazan fournie à leur laboratoire en Octobre 1939 par l'Institut microbiologique de Kazan U.R.S.S. et dont on ne connaît aucun détail; enfin ils citent 2 souches de tréponèmes commensaux de la bouche, isolés par Wichelhausen.

Le problème de l'identification sera donc le même, qu'il s'agisse du tréponème de Reiter ou des autres souches de tréponèmes cultivés et supposés être *Treponema pallidum*.

Nous avons vu les ressemblances, puis l'origine soit disant identique des souches *Reiteri* et *pallidum*; nous terminerons cette discussion en étudiant les différences qui peuvent exister entre elles.

Outre les différences morphologiques (le tréponème de Reiter est plus gros, ses mouvements sont moins rapides que ceux de *Treponema pallidum*), il se trouve que l'un est cultivable et non pathogène, tandis que l'autre, caractérisé par sa virulence pour l'homme et certains animaux de laboratoire ne peut être cultivé.

On rencontre à nouveau des divergences, quand on étudie comparativement la constitution antigénique, l'immunité croisée, ou quand on réalise l'épreuve des immobilisines.

Ainsi, d'après les travaux de Dardanoni et Censuales, les tréponèmes de Schaudinn et de Reiter ont une constitution antigénique légèrement différente, puisque, outre leur antigène commun, le tréponème de Schaudinn est doté d'un composant antigénique spécifique.

D'autre part, Gelperin, en 1951, fut incapable de protéger des lapins contre la syphilis, en les immunisant avec le tréponème de Reiter. Enfin, l'épreuve des immobilisines donne les résultats suivants:

1°- Le sérum des syphilitiques immobilise le tréponème de Reiter.

2°- Mais si des tests T.P.I. positifs, employant des tréponèmes virulents, sont obtenus avec des sérums de malades atteints de syphilis, de Yaws, ou de Pinta, de même qu'avec des sérums de lapins infectés par *Treponema cuniculi*, aucune immobilisation ne se produit si les lapins ont été inoculés avec des tréponèmes de Reiter, vivants ou tués.

Il semble donc que le doute doive demeurer en ce qui concerne l'identification du tréponème de Reiter au tréponème de Schaudinn. Diverses hypothèses ont été émises à ce sujet :

Eagle et Germuth (66) suggèrent deux explications : *Treponema pallidum* peut, au cours de passages sur un milieu artificiel, perdre complètement son pouvoir pathogène, et voir se modifier sa morphologie. Ou bien, les tréponèmes ainsi cultivés sont des tréponèmes saprophytes que l'on trouve en association avec *Treponema pallidum* dans les lésions syphilitiques, et qui étaient présents quand les tentatives de culture furent faites.

Eagle, Musselman et Fleischman (23) tendent à confirmer cette dernière hypothèse.

Jahnel, en 1934, conclut, après des études sur la morphologie, que ces souches appartiennent probablement au groupe *Spirocheta gracilis* (*Treponema genitale* et *T. calligyrum*) spirochète saprophyte que l'on trouve dans la région génitale. Cependant, il semble improbable que les antigènes du saprophyte *Sp. gracilis*, exercent la même action spécifique sur le sérum syphilitique que l'authentique antigène de Reiter.

Enfin, nous signalerons la position prise par A.R. Prévot, qui, dans la mise à jour 1956 du livre de Bactériologie de Dumas, cite la souche Reiter comme appartenant à l'espèce *Treponema Refringens* (Schaudinn) T. et W.

V. MORPHOLOGIE DU TREPONEME DE REITER SOUMIS A

L'ACTION DE LA PENICILLINE

Des tubes de milieu de Brewer sont additionnés de quantités variables de pénicilline, etensemencés avec des tréponèmes de Reiter, en déposant, au fond du tube, quelques gouttes d'une culture plus ou moins âgée.

L'examen des tréponèmes s'effectue à l'ultramicroscope, à des intervalles variables, les tubes étant gardés à l'étuve à 37°.

Ces expériences ont été répétées de nombreuses fois, et il a été constaté que les résultats obtenus ne variaient que légèrement, selon la grosseur de l'inoculumensemencé, la dose de l'antibiotique et l'âge de la culture employés. Le processus de la destruction des tréponèmes se poursuit, en général, de la façon suivante:

1°- une à huit heures après le début de l'expérience, la mobilité des tréponèmes est parfaitement conservée et analogue à celle des tréponèmes du tube témoin sans pénicilline.

2°- 24 heures après, la majorité des tréponèmes du tube pénicilliné sont immobiles, tandis que la minorité ont conservé leur mobilité normale ou ralentie. Les germes immobiles ont, en général, un aspect normal, quoique certains d'entre eux se présentent sous forme allongée (tréponèmes géants), déjà signalés par Abraham Gelperin (6), par Tung et Frazier (67), et très récemment par Gastinel, ou sous forme de germes bouclés à une ou à deux extrémités.

3°- Deux à trois jours après, on découvre encore quelques tréponèmes faiblement mobiles, tous les autres étant immobiles et souvent enroulés à l'une ou à leurs deux extrémités; on constate, en même temps, des points brillants dans le corps de certains tréponèmes immobiles.

4°- Après le quatrième ou le cinquième jour, on ne découvre plus de tréponèmes vraiment mobiles, seuls quelques uns d'entre eux peuvent présenter encore de légers mouvements de spires, et parfois des contractures brusques de quelques spires, surtout à leurs extrémités. Le nombre de germes enroulés augmente.

5°- A partir du sixième jour, l'immobilité des tréponèmes est totale, leur forme brillante disparaît progressivement, et les jours suivants, ces germes n'apparaissent plus que sous l'aspect d'ombres; cependant, on n'assiste pas à une lyse totale des tréponèmes.

La morphologie des tréponèmes de Reiter soumis à l'action de la pénicilline, ne diffère pas essentiellement de celle des tréponèmes de Reiter morts spontanément dans les cultures âgées. En effet, lorsqu'on examine à l'ultramicroscope des cultures âgées, respectivement de 21, de 28, de 33 et de 44 jours, on observe les images suivantes:

Cultures âgées de 21 et de 28 jours : les tréponèmes sont en majorité immobiles, mais ils ont conservé leur forme normale.

Toutefois, de légères contractures de spires s'observent chez certains d'entre eux, et des repiquages sur un milieu frais donnent encore des cultures positives. On constate, en même temps, la présence des tréponèmes bouclés à une ou aux deux extrémités de leurs corps, et des points brillants à l'intérieur des germes.

Cultures âgées de 33 et de 44 jours : Tous les tréponèmes sont immobiles. Repiquages négatifs. Présence de tréponèmes bouclés et de corps sphériques libres ou pourvus d'un court flagelle.

Ces images sont, à peu de choses près, identiques à celles décrites dans les cultures âgées par Gelperin, qui pense que les corps sphériques sont probablement des kystes. S. Mutermilch pense plutôt qu'il ne s'agit pas ici de kystes, mais de tréponèmes enroulés, consécutivement à la modification de la membrane et à la perte de son élasticité.

Par conséquent, la seule différence entre les tréponèmes provenant des cultures âgées et ceux qui ont été soumis à l'action de la pénicilline, consiste en une accélération de la mort des germes en présence de cet antibiotique : dans le premier cas (cultures âgées), l'immobilisation et les modifications morphologiques s'obtiennent en 20 à 40 jours, tandis que dans le deuxième cas (pénicilline), tout est terminé entre le troisième et le cinquième jour.

Dès lors, le problème suivant se pose : comment se fait-il que, *in vitro*, trois à cinq jours de contact avec la pénicilline sont nécessaires pour aboutir à l'immobilisation totale des tréponèmes, tandis que, *in vivo*, leur mort survient beaucoup plus rapidement, comme il a été constaté par de nombreux auteurs.

Ainsi, par exemple, Mahoney, Arnold et Harris (68) auxquels on doit la découverte de l'action thérapeutique de la pénicilline dans la syphilis, constatent, chez le lapin, la disparition des tréponèmes dans le chancre, 16 heures après l'injection de la pénicilline. D'après Levaditi (69) les tréponèmes du chancre de lapin commencent à s'immobiliser à partir de la neuvième heure, pour disparaître complètement entre la 12ème et la 29ème heure.

D'autres auteurs donnent des chiffres variant entre 3 et 24 heures.

Il est donc évident que l'organisme intervient dans le processus de destruction des tréponèmes par la pénicilline. La plupart des auteurs, admettent que la pénicilline bloque l'équipement enzymatique leur servant à la synthèse des protides indispensables à leur croissance et à leur division (Levaditi), et que les tréponèmes ainsi lésés deviennent la proie facile des leucocytes; d'autres auteurs soupçonnent, en plus, un autre mécanisme encore ignoré.

VI. MECANISME DE L'ACTION BACTERICIDE DE LA PENICILLINE

IN VIVO

Les expériences de Levaditi et Nicolau -

Levaditi et Yamanouchi ont montré en 1907, que l'Atoxyl, dérivé arsenical incapable de détruire les trypanosomes in vitro, devient fortement trypanocide si l'on a soin de le mettre en contact, à 37°, avec un extrait frais de foie de lapin. Il se transforme ainsi en Trypanotoxyl, qui semble être constitué par un complexe de matières protéiques, auquel l'arsenic est fixé plus ou moins intimement.

Dans sa thèse, parue en 1925, Nicolau (70) étudie le mécanisme d'action du bismuth dans les trypanosomiasés et les spirilloses et montre que le bismuth, sans action, in vitro, sur les trypanosomes ou les spirilles, devient fortement nocif vis-à-vis de ces micro-organismes, s'il est mis auparavant en contact pendant un temps déterminé, à 37°, avec un extrait frais de foie de lapin.

L'auteur donne l'exemple suivant: si l'on met en contact pendant une heure à 37°, une solution de tartrobismuthate de sodium et de potassium, à la concentration de 0,5 à 4 %, avec 0,5 cm³ de sang d'une poule infectée par *Spirocheta gallinarum*, ou avec 0,5 cm³ de sang d'une souris infectée par les Trypanosomes (Nagana), les Spirochètes et les Trypanosomes restent vivants.

Mais, si auparavant, la solution bismuthique est mélangée avec une quantité égale d'extrait hépatique, les germes cessent de se mouvoir dans le milieu. A certaines concentrations, ils sont immobiles au bout d'une demi-heure.

"Dans le mélange bismuth, plus albumine animale (extrait hépatique), le métal se fixe sur les matières protéiques et donne

naissance à un flocculat. C'est ce complexe colloïdo-bismuthique qui a été désigné sous le nom de Bismoxyl.

L'arsenic, l'antimoine, le vanadium, peuvent être également activés in vitro, par des extraits d'organes".

"Dans la syphilis expérimentale du lapin, le Bismoxyl se comporte comme un agent thérapeutique de premier ordre. Des quantités infinitésimales de bismuth, activé par les colloïdes protéiques, suffisent pour obtenir la stérilisation complète de l'organisme animal infecté par les tréponèmes".

La technique employée par Nicolau est la suivante : Il utilise des solutions de sels bismuthiques dans de l'eau salée isotonique.

L'extrait se prépare extemporanément, en ajoutant, à un volume de pulpe, deux volumes d'eau salée isotonique, et en centrifugeant rapidement. Le mélange, sel de bismuth et extrait d'organe est maintenu à 37° pendant 3 à 8 heures.

Les expériences exposées ci-dessous ont donc eu pour objet l'étude du rôle stimulateur éventuel de divers organes sur la pénicilline, vis-à-vis du tréponème de Reiter.

Nous avons éprouvé successivement l'action d'organes totaux, foie, rate, rein, puis l'action de l'extrait de foie préparé suivant la technique de Nicolau.

EXPERIENCE I.

Par voie intramusculaire, on injecte 500.000 UI de pénicilline à un lapin. Il est saigné à blanc le lendemain après avoir prélevé un peu de sang à la veine de l'oreille. Des fragments de foie, de rate et de rein, d'un poids approximatif de un gramme, prélevés stérilement, sont placés au fond des tubes contenant le milieu de Brewer; ces tubes sontensemencés avec une culture de tréponème de Reiter âgée de cinq jours et placés à 37°. Les cultures sont ensuite examinées à l'ultramicroscope à des intervalles variables.

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus:

Tube	Organe	4 heures après	24 heures après	48 heures après
I	Foie	Majorite des tr.immobiles ou faibl.mo- biles.tr.bou- clés et ombres de tréponèmes.	Tous immobi- les.	Tous immo- biles.
II	Rate	Mobiles	Mobiles ou faibl.mobi- les	Majorité im- mobiles
III	Rein	Mobiles	Mobiles	Mobiles
IV	Sérum	Mobiles	Mobiles	Mobiles
V	Témoin	Mobiles	Mobiles	Mobiles

Cette expérience montre que les tréponèmes mis en contact avec un fragment de foie d'un lapin pénicilliné, commencent à s'immobiliser et à s'enrouler dès la quatrième heure et sont complètement détruits en 24 heures. Le rein et le sérum se montrent inactifs, tandis que la rate n'agit qu'après 24 à 48 heures de contact. Il va sans dire que le foie et la rate d'un lapin normal non pénicilliné, non seulement n'empêchent pas la multiplication des tréponèmes, mais, au contraire, favorisent leur développement.

Ajoutons qu'avec un fragment de foie pénicilliné ne pesant que 0,1 g l'immobilisation des tréponèmes n'est obtenue qu'à partir de la 48ème heure.

Il y a donc une différence marquée entre l'action de la pénicilline seule qui ne détruit la totalité des tréponèmes qu'entre le 3ème et le 5ème jour, et celle du foie pénicilliné qui commence à immobiliser les tréponèmes vers la 4ème heure et les détruit totalement en 24 heures.

EXPERIENCE II.

L'ACTION DE L'EXTRAIT DE FOIE SUR LA PENICILLINE.

Un lapin est saigné à blanc. On prélève stérilement un gros fragment de foie qu'on broie dans un mortier. On ajoute, petit à petit, deux fois le poids d'organe, d'eau physiologique. On centrifuge et on décante le liquide surnageant.

L'extrait du foie ainsi obtenu, est mélangé, à parties égales, avec une solution de pénicilline. Le mélange est placé à l'étuve à 37° pour quatre heures. On ajoute ensuite 1 cm³ du mélange à 9 cm³ de milieu de Brewer, et on ensemence, en déposant au fond du tube, quelques gouttes d'une culture de six jours de tréponème de Reiter. Les tubes témoins contenaient, soit la même dose de pénicilline seule, soit l'extrait de foie seul.

Tube		5 H.après	24 H.après	48 heures	72 heures
I	Extrait du foie +0,5 UI de pénicilline	Mobiles	Tous immobiles, mais très rares tr. légèrement oscillants; apparition de tr. bouclés	Tous immobiles. Ombres de tréponèmes	Ombres de tréponèmes
II	Extrait du foie +2 UI de pénicilline	Grande majorité mobiles. Apparition de tr. bouclés.	Tous immobiles	Tous immobiles. Ombres de tréponèmes	Ombres de tréponèmes
III	Pénicilline seule 0,5 UI	Mobiles	Majorité immobiles. Minorité mobiles	Majorité immobiles Minorité faibl. mobiles.	Majorité immobiles Très rares nettement mobiles.
IV	Pénicilline seule 2 UI	Mobiles	Majorité immobiles. Minorité mobiles.	Majorité immobiles Minorité faibl. mobiles	Tous immobiles
V	Extrait du foie seul	Mobiles	Mobiles	Mobiles	Mobiles culture
VI	Témoin	Mobiles	Mobiles	Mobiles	Mobiles culture

Cette expérience montre que les mélanges de l'extrait du foie et de la pénicilline commencent à immobiliser les tréponèmes à partir de la cinquième heure, et que tous les tréponèmes deviennent immobiles 24 heures après la mise en contact.

La pénicilline seule, dans les mêmes conditions expérimentales, commence à immobiliser les tréponèmes à partir de la 24ème heure, mais des tréponèmes mobiles sont encore présents 48 heures ou 72

heures après.

Lorsqu'on compare ce résultat avec celui de l'expérience précédente, on constate, que le foie fraîchement isolé d'un lapin pénicilliné agit plus vite sur les tréponèmes en les détruisant presque complètement en quatre heures, tandis que l'extrait du foie + pénicilline, nécessite au moins 24 heures pour les immobiliser totalement. Cette différence peut s'expliquer par l'extraction insuffisante du principe actif du foie par la technique employée.

Quoiqu'il en soit, on peut affirmer que le foie stimule l'action de la pénicilline sur les tréponèmes.

Quel est le mécanisme de ce phénomène ? S'agit-il d'une combinaison entre une substance de provenance hépatique et la pénicilline, ou d'une sensibilisation des tréponèmes par cette substance et une action ultérieure de la pénicilline, ou d'un tout autre mécanisme, tel que la formation d'un métabolite très actif de la pénicilline par la cellule hépatique ?

De nombreuses expériences seront nécessaires, pour élucider ce problème que nous nous proposons d'aborder dans un très proche avenir.

CONCLUSIONS

- Notre étude nous permet de dégager plusieurs propriétés intéressantes du tréponème de Reiter.

Premièrement : le tréponème de Reiter présente le même antibiogramme et la même sensibilité aux agents chimiothérapeutiques (mercure, arsenic, bismuth, or, vanadium) que le tréponème de Schaudinn. Les antibiotiques peuvent être ainsi divisés en deux groupes :

- antibiotiques dépourvus d'action :

soframycine, viomycine, polymyxine, néomycine, tyrothricine, streptomycine.

- et antibiotiques actifs :

pénicilline, érythromycine, magnamycine, terramycine, rovamycine, tétracycline, chloramphénicol, auréomycine et bacitracine.

Or, tandis que l'établissement du spectre antibiotique du tréponème de Reiter présente toutes les facilités d'une expérimentation in vitro, on ne peut recourir, pour *Treponema pallidum*, qu'aux méthodes délicates, longues et dangereuses de l'expérimentation in vivo, soit chez l'animal, soit chez l'homme.

Une application immédiate nous paraît donc se trouver dans l'étude de l'action spirochéticide des médicaments nouveaux, en particulier des antibiotiques, où l'expérimentation in vitro, sur le tréponème de Reiter pourrait précéder les expériences cliniques, en permettant d'éliminer a priori les antibiotiques inactifs.

- Un deuxième point, rapprochant encore le tréponème de Reiter et le tréponème de Schaudinn, est celui de la résistance aux antibiotiques. En effet, de même que des souches pénicillino-résistantes n'ont jamais été mises en évidence au cours de traitements de la syphilis de l'homme ou du lapin par la pénicilline, de même, la création de races de tréponème de Reiter antibiotico-résistantes semble irréalisable "in vitro". Des résultats identiques ont été obtenus en ce qui concerne la pénicilline, aussi bien que pour d'autres antibiotiques cependant moins actifs, tels que le chloramphénicol et l'auréomycine.

Enfin, l'étude plus approfondie du comportement du tréponème de Reiter en présence de la pénicilline a montré que les modifications morphologiques que subissent les tréponèmes de Reiter sous l'action de la pénicilline sont analogues à celles que présentent les tréponèmes des cultures âgées.

D'autre part, l'étude du mécanisme de l'action bactéricide de la pénicilline in vivo, a permis d'établir le rôle important que le foie semble jouer dans l'action tréponémicide de cet antibiotique. Le foie stimule l'action de la pénicilline sur les tréponèmes.

- Le tréponème de Reiter a donc été pour nous un agent d'expérimentation intéressant, surtout par le fait de l'existence de nombreux points communs de ce germe avec le tréponème de la syphilis.

Cependant, malgré l'origine soit-disant identique des deux souches Reiter et Schaudinn, le problème de l'identité de ces deux tréponèmes n'a pu être résolu, et a donné naissance à diverses hypothèses également intéressantes entre lesquelles nous ne saurions nous prononcer.

BIBLIOGRAPHIE

--

1. RUGE (H.G.S.)

Brit.J. Ven. Dis. 1956. 32. 242.

Role of Treponema Reiter in modern serology of syphilis.

2. WASSERMANN (A.V) et FICKER (M.)

Klin Woch. 1922. I.1101

Reinkulturen der Spirochaete Pallida in Festem und Flussigem
Näturboden, sowie Übertragung dieser Kulturen auf Tiere.

3. REITER (H.)

Klin. Woch. 1926. I.444.

Über Fortzüchtung von Reinkulturen der Spirochaete Pallida,
Spirochaete Dentium und Spirochaete Recurrens.

4. GAETHGENS (W.)

Med. Klin. 1929. I.382.

Über die antigene Wirkung von Pallidasuspensionen in carbo-
lisierter Kochsalzlösung.

5. GAETHGENS (W.) et OTTO (A.)

Med. Klin 1929. I.845

Über die Brauchbarkeit eines wässerigen carbolisierten
Pallida antigen für die serologische Syphilis diagnose.

6. GELPERIN (A.)

Am. J. Syph. 1949. 33. 101.

Morphology, cultural characteristics, and a method for mass
cultivation by the Reiter Spirochete.

7. DUMAS (J.) et coll.

Bactériologie médicale - Flammarion - ed. Paris 1956 - 838 a.
Espèces anaérobies strictes du genre Treponema. Milieux de
culture.

8. BABUDIERI (B.)

Rendic. Ist. Sup. San. 1952. 15. 711

Ricerche di microscopia elettronica. IV studio morfologico del genere Treponema.

9. DUMAS (J.) et coll.

Bactériologie médicale - Flammarion ed. Paris 1956 - 838 f.
Treponema Refringens.

10. ROSE (N.R.) et MORTON (H.E.)

Am. J. Syph. 1952. 36. I.

The cultivation of Treponemes with the preservation of characteristic morphology.

11. BEARDMORE (W.B.) et DODD (M.C.)

J. Bact. 1950. 60. 5.

The growth of the Reiter strain of Treponema Pallidum in the chick embryo.

12. NEWCOMBER (V.D.) et HAANES (M.)

Am. J. Syph. 1949. 33. 318.

Observations on the growth of the non pathogenic Nichols strain of the Treponema Pallidum in the embryonated chick egg under anaerobic conditions.

13. BARBAN (S.)

J. Bact. 1954. 68. 493

Studies on the metabolism of the Treponemata.

14. DEMANCHE (R.)

Bull. Soc. Derm. Syph. 1953. 440

A propos du contrôle sérologique du traitement de la syphilis.

15. DARDANONI (L.) et CENSUALES (S.)

Riv. Ist. Sierot. It. 1957. 32. 489-500

Sugli antigeni di natura proteica dei Treponemi.

Dimostrazione di un antigene comune al Treponema patogeno ed al Treponema coltivabile di Reiter.

16. PAUTRIZEL (R.), BONNARDOT (F.), SZERSNOVICZ (F.)

(Bordeaux) Ann. I. P. 1957. 92. 586.

La sérologie de la syphilis avec un antigène constitué de

Tréponèmes de culture désintégrés par les ultra-sons (T.U.S.)

17. GASTINEL (P.), VAISMAN (A.), HAMELIN (A.), DUNOYER (F.)
Ann. Derm. et Syph. Paris 1957. 84.153-158
De l'emploi des antigènes du Tréponème de Reiter dans la sérologie de la syphilis et dans l'étude des phénomènes de sensibilisation allergique.
18. De BRUIJN (J.H.)
Antonie v.Leeuwenhoek. 1957. 23. 201-206
The application of a protein fraction derived from Treponema Pallidum (Reiter strain) as an antigen in the sero diagnosis of syphilis.
19. D'ALESSANDRO (G.) et del CARPIO (C.)
Nature (Lond.) 1958. 181. 991-992
A lipopolysaccharide antigen of the Treponema.
20. SOHIER (R.), BENAZET (F.), BROTTES (H.), THIVOLET (J.)
Revue lyonnaise de médecine 1954. 3.748
La réaction de fixation du complément en présence d'antigènes tréponémiques (Reiter) (Etude comparée avec les réactions aux antigènes cardiolipidiques et avec le test d'immobilisation de Nelson)
21. MUTERMILCH (S.) et DELAVILLE (M.)
Ann. Biol. Clin. 1955. 79. 398.
L'emploi d'antigènes tréponémiques (souche Reiter) pour le sérodiagnostic de la syphilis dans les sérums et les liquides céphalo-rachidiens.
22. EAGLE (H.) et MUSSELMAN (A.D.)
J. of Exp. Med. 1944. 80. 483
The Spirocheticidal action of Penicillin in vitro and its temperature coefficient.
23. EAGLE (H.), MUSSELMAN (A.D.) et FLEISCHMAN (R.)
J. Bact. 1948. 55. 347
The action of Bacitracin and Subtilin on Treponema Pallidum in vitro and in vivo.

24. KELLER (R.) et MORTON (H.E.)
Am. J. Syph. 1953. 37. 379
Susceptibilities of Kazan, Nichols and Reiter strains of
Treponema and pleuropneumonia-like organisms to the antibiotic Erythromycin (Ilotycin).
25. SCARPA (C.)
Riv. Ist. Sierot ital. 1949. 24. 244.
Spirochete di Reiter e Penicillina in vitro.
26. DUNHAM (W.B.), HAMRE (D.), Mc-KEE (C.) et RAKE (G.)
Proc. Soc. Exp. Biol. 1944. 55. 158-160
Action of Penicillin and other antibiotics on Treponema Pallidum.
27. NELL (E.)
Am. J. Syph. 1954. 38. 91.
Comparative sensitivity of Treponemes of syphilis, yaws, and bejel to Penicillin in vitro, with observations on factors affecting its treponemicidal action.
28. TURNER (Th.B) et SCHAEFFER (Kath.)
Am. J. Syph. 1954. 38. 81
The comparative effect of various antibiotics in experimental syphilis
29. LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.)
Bull. Acad. Med. 1944. 128. 699
Action thérapeutique de la pénicilline dans la syphilis cliniquement inapparente et la maladie de Nicolas-Favre chez la souris.
30. DROUHET (E.)
C.R. Soc. Biol. 1947. 141. 1016
L'activité thérapeutique de la streptomycine dans l'infection produite chez la souris par le Treponema Pallidum.
31. CARTEAUD (A.J.P.)
Thèse Dr. Med. Paris 1954.
L'activité des antibiotiques autres que la pénicilline dans la syphilis récente.

32. VANDEPUTTE (J.),
Rev. belge Path. Med. exp. 1950. 20. 368
Influence de la Bacitracine, de la Terramycine et de la ~~Ty~~-
rothricine sur la mobilité et la croissance de quelques trépo-
nèmes.
33. CORDICE (J.W.V. jr.), AVECILLA (M.), MARMELL (M.),
SHIDLOVSKY (B.A.) et PRIGOT (A.)
Antib. Ann. 1953. 1954. 980
34. HURIEZ (C.), DESMONS et BAELDEN.
Bull. Soc. fr. Derm. et Syph. 1854. 61. 308
A propos de quelques constatations initiales, cliniques et
expérimentales sur l'emploi de l'Erythromycine dans la syphi-
lis.
35. HURIEZ (C.), DESMONS (F.), BAELDEN (J.) et GASNAULT (J.C.)
Soc. Méd. du Nord - Mars 1956
36. BUCKINGER (B.H.), HOOKINGS (C.E.) et GARSIA (W.)
Ant. Med. 1955. I. 100
Preliminary report on effect of Carbomycin in early syphilis.
37. ROBINSON (H.M.) et ROBINSON (H.M. jr.)
Am.J. Syph. 1951. 35. 479
Terramycin in the treatment of syphilis
38. SCHOCH (A.G.) et ALEXANDER (L.J.) -
Am. New-York. Acad. Sci. 1950. 53. 459
Terramycin in the control of venereal diseases.
39. HENDRICKS (F.D.), GREAVES (A.B.), OLANSKY (S.), TOGGART (S.R.)
LEWIS (C.N.), LANDMAN (G.S.) MAC DONALD (G.R.) et WELCH (H.)
J. Am. Med. ass. 1950. 143. 4.
Terramycin in the treatment of venereal diseases.
40. IRGANG (S.) et ALEXANDER (E.R.)
Am. J. Syph. 1953. 37. 247
Treatment of early syphilis with Terramycin.

41. BESSEMANS (A.) et VANDEPUTTE (J.)
Arch. belges Dermat. Syph. 1951. 7.121.
Influence de la Terramycine sur la syphilis expérimentale
du lapin.
42. LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.)
Presse Méd. 1951.2. 849
La terramycine, nouvelle médication antisypilitique.
43. LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.)
Presse méd. 1952. 2. 1123.
Effets thérapeutiques de l'association Terramycine-Bismuth
dans la syphilis expérimentale du lapin.
44. KIERLAND (R.R.) et O'LEARY (P.A.)
Am. J. Syph. 1951. 35. 544.
Oral treatment of neurosyphilis with aureomycin : progress
report.
45. IRGANG (S.) et ALEXANDER (E.R.)
Harlen Hosp. Bull. 1948. 1.91
Treatment of early syphilis with Aureomycin.
1951.4.58
Treatment of early syphilis with aureomycin . Report based
on a study of sixty-eight cases.
46. O'LEARY (P.A.), KIERLAND (R.R.) et HERRELL (W.E.)
Proc. Staff. Mayo Clin. 1948. 23. 574
The oral administration of aureomycin and its effect on
Treponema pallidum in man.
47. RODRIGUEZ (J.), PLOTKE (F.), WEINSTEIN (S.) et HARRIS (W.W.)
J. am. med. ass. 1949. 141.771.
Aureomycin and its effect in early stages of syphilis.
48. OLANSKY(S.), HOGAN (R.B.), TAGGART (S.R.), LANDMAN (G.S.)
et ROBIN (E.D.)
Am. J. Syph. 1950. 34. 436
Treatment of syphilis with aureomycin.

49. TAGGART (S.R.), ROMANSKY (M.J.) et LANDMAN (G.S.)
Am. J. Syph. 1952. 36. 174.
Treatment of syphilis with aureomycin and chloromycetin.
50. RODRIGUEZ (J.), WEINSTEIN (S.) et PARKHUNST (G.E.)
Arch. Dermat. et syph. 1952. 66. 59
Aureomycin and its effect in early syphilis.
51. ROBINSON (H.M.) et ROBINSON (H.M.jr.)
Am. J. Syph. 1953. 37. 243.
Broad-spectrum antibiotic therapy of early syphilis.
Posttreatment survey.
52. LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.)
Presse Méd. 1950. I. 333
L'aureomycine, nouvelle médication antisypilitique.
53. WIGGAL (R.H.), ZHEUTLIN (H.E.C.) et TRICE (E.R.)
Am. J. Syph. 1949. 33. 416.
Studies on the effect of Aureomycin on Treponema pallidum.
54. ROMANSKY (M.J.), OLANSKY (S.), TAGGART (S.R.), LANDMAN (G.S.)
et ROBIN (E.D.)
Am. J. Syph. 1951. 35. 234
Chloromycetin (Chloramphenicol) in the treatment of various
types of syphilis.
55. ROBINSON (C.V.), FOX (L.M.) et DUVAL (R.C.)
Am. J. Syph. 1949. 33. 509
Effect of Chloramphenicol in early syphilis.
56. WILLCOX (R.R.)
Brit. med. J. 1949. 2. 1076
Aureomycin : a new treatment of syphilis ?
57. VAISMAN (A.)
C.R. Soc. Biol. 1950. 144. 900
L'action du Chloramphenicol (tifomycine) dans la syphi-
lis expérimentale.

58. GRUHZIT (O.M.) et FISKEN (R.A.)
Am. J. Syph. 1950. 34. 338
Chloramphenicol (chloromycetin) in experimental syphilis of rabbits.
59. DUNHAM (W.B.) et RAKE (G.)
Science 1946. 103. 365
The activity of Streptomycin in experimental syphilis.
60. FISKEN (R.A.) et GRUHZIT (O.M.)
Am. J. Syph. 1946. 30. 581.
The effect of Streptomycin on experimental syphilis infection of rabbits.
61. DEGOS (R.)
La Revue du Praticien - 1953. 3. 2031.
Le traitement actuel de la syphilis récente.
62. LEVADITI (C.), COQUOIN (R.), KRASSNOFF (D.) et MANIN (Y.)
Bul. Soc. fr. Derm. et Syph. 1953. 40. 1433
Mécanisme de l'action chimiothérapeutique du bismuth et de l'or dans la syphilis expérimentale.
63. BOLGERT (M.)
Bull. Soc. med. Hop. Paris 1957. 73. 357-360.
Récidive d'une roséole syphilitique apres traitement par 15 millions de pénicilline, chez un sujet atteint d'hépatite chronique avec diabète. Premier cas certain de pénicillino-résistance partielle.
64. PROLEY (T.F.)
Am. J. Syph. 1953. 37. 369.
Attempts to produce a penicillin-resistant strain of *Treponema pallidum* in experimental syphilis.
65. BEERMAN (H.), NICHOLS (L.), BUERK (M.S.) et FORD (W.T.)
Arch. Int. Med. 1950. 85. 305
Syphilis, review of recent literature.

66. EAGLE (H.) et GERMUTH (J.R.)
J. Immunology 1949. 60. 223.
The serologic relationship between five cultured strains of supposed *Treponema pallidum* (Noguchi, Kroo, Nichols, Reiter and Kazan) and two strains of mouth treponemata.
67. TUNG (T.) et FRAZIER (C.N.)
Am.J. Syph. 1946. 30. 205.
Penicilin sensitivity and morphology of the Reiter strain of *Treponema pallidum* after cultivation in media containing Penicillin.
68. MAHONEY (J.F.), ARNOLD (R.C.) et HARRIS (A.)
J. Ven.Dis.Inf. 1943. 24. 355.
Penicillin treatment of early syphilis. A preliminary report.
69. LEVADITI(C.)
La pénicilline et ses applications thérapeutiques.
Masson et Cie, Editeurs, 1945.
70. NICOLAU (S.)
Thèse Fac. Sciences Paris. Barnéaud ed.Laval 1925. 90 pages
Recherches biochimiques sur le mécanisme d'action du bismuth dans les Spirilloses et les Trypanosomiasés.

